

ВІДГУК

офіційного опонента доктора фармацевтичних наук, професора Гордієнка Анатолія Дмитровича на дисертаційну роботу Журенко Дмитра Сергійовича за темою «Дослідження фармакологічної активності нового комбінованого гелю, що містить екстракти *Aloe arborescens* та *Cortex Quercus*», подану до спеціалізованої вченої ради ДФ 64.605.019 при Національному фармацевтичному університеті, що утворена наказом МОН України № 494 від 30.04.2021 для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 – «Фармація», галузь знань 22 – «Охорона здоров'я»

Актуальність обраної теми

Деструктивно-запальні захворювання пародонту (ДЗЗП) охоплюють всі патологічні процеси що виникають у тканинах що оточують зуб (ясна, слизова), включаючи деструкцію альвеолярної кістки, складових пародонту. Гінгівіт - найлегша форма захворювання пародонту, і його можна виявити у 90% населення. За умов не своєчасної і/або неадекватної терапії гінгівіт, переростає у хронічний, руйнівний, незворотний стан запального захворювання пародонту – пародонтит. За даними Gasner N.S., Schure R.S. (2020) ДЗЗП сьогодні можна спостерігати у близько 90% світового населення, що робить це взагалі найпоширенішим захворюванням. Тільки в США перехресні дослідження показують, що в даний час приблизно 50% дорослих мають ту чи іншу форму гінгівіту, і до 80% у своєму житті перенесли певну форму пародонтиту. Доведено, що деякі групи населення мають підвищену частоту захворювань на ДЗЗП, до цих груп належать літні особи, пацієнти із хронічними захворюваннями ШКТ, хворі на цукровий діабет, ожиріння, хронічний коронарний синдром.

Коменсальні ротові бактерії відповідають за ініціацію та розповсюдження патологічного процесу через дисбіоз. Зазвичай ДЗЗП протікає циклічно з періодами активності та спокою, доки не будуть вжиті терапевтичні дії, або структури пародонту будуть незворотно зруйновані. У міру прогресування хвороби пародонту від гінгівіту до пародонтиту збільшується кількість специфічних бактеріальних патогенів, що індукує системну запальну реакцію, оксидативний стрес, дисбаланс імунної системи.

Лікування пацієнтів із ДЗЗП відповідно повинно включати засоби із полімодальною фармакологічною дією, яка була б спрямована на основні патогенетичні ланки, на жаль сьогодні не представлені на фармацевтичному ринку України.

Таким чином, представлена до розгляду дисертаційна робота, що присвячена створенню оригінального ЛЗ для терапії ДЗЗП на основі рослинних екстрактів *Aloe arborescens* та *Cortex Quercus* із

антиоксидантною, антимікробною, протизапальною, імуномодельною, у формі гелю є актуальною та своєчасною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт НФаУ («Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів», № державної реєстрації НДР: 0114U000955.), дисертант є співвиконавцем даної науково-дослідної роботи.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність

Дисертація Журенко Д.С. виконана на високому науковому рівні із використанням сучасних методів фармакологічних, мікробіологічних, токсикологічних, гістологічних та біохімічних досліджень, достатньої кількості лабораторних тварин, методик та визначенням інформаційних показників. Достатня кількість фактично отриманих показників оброблена із використанням статистичних методів, достовірність отриманих результатів не викликає сумнівів. Експериментально отримані показники наведені у вигляді таблиць і рисунків. Наукові положення і висновки дисертаційної роботи засновані на методичних принципах, що відповідають поставленим завданням, є теоретично і експериментально обґрунтованими і логічно випливають з отриманих результатів. Теоретичні припущення, що робить автор та висновки дисертації базуються на результатах власних досліджень і цілком відображають встановлені закономірності, що були з'ясовані під час експериментальних досліджень.

Зазначене дає підставу вважати, що наукові положення та висновки дисертаційної роботи Журенко Д. С. є повністю обґрунтованими, узгодженими з метою і завданнями дослідження.

Наукова новизна одержаних результатів

Дисертантом удосконалено науково-методичні підходи до розробки складу ЛЗ у формі гелю для парадонтології на основі рослинних об'єктів та етапів доклінічного дослідження нових ЛЗ подібної фармакологічної дії.

Автором вперше експериментально обґрунтовано доцільність застосування нового гелю, що містить сухий екстракт алое та густий екстракт дуба у терапії ДЗЗП. Експериментально визначено оптимальний склад діючих компонентів та їх доз. Вперше доведено лікувальні властивості нового гелю, що містить екстракти *Aloe arborescens* 3% та *Cortex Quercus* 5% на моделях афтозного стоматиту та протамінового парадонтиту.

Проведено вивчення токсикологічного профілю нового гелю та встановлена його нешкідливість при тривалому застосуванні (1 місяць) при нанесенні у терапевтичному об'ємі та у об'ємі, що у 10 разів перевищує терапевтичний. Встановлено, що в умовах вивчення гострої токсичності новий гель при нашкірному нанесенні відноситься до VI класу токсичності «Відносно нешкідливі речовини», а його компоненти за умов

внутрішньошлункового введення також відносяться до VI класу токсичності «Відносно нешкідливі речовини», а при внутрішньоочеревинному введенні досліджувані екстракти відносяться до V класу токсичності «Практично нетоксичні речовини».

Практичне значення отриманих результатів не викликає сумніву. Результати дисертаційної роботи Журенка Д.С. є вагомим теоретичним підґрунтям для розробки високоефективного засобу полімодальної дії для терапії деструктивно-запальних захворювань пародонту та слизової порожнини рота шляхом комбінованого застосування екстрактів алое та кори дуба, що чинять антиоксидантну, цитопротекторну, протизапальну, антимікробну, репаративну дії. В ході досліджень обґрунтовано оптимальний склад діючих компонентів лікарської форми у вигляді гелю, визначено ефективність нового гелю на еспериментальних моделях захворювань пародонта та слизової порожнини рота.

За даними представленої дисертаційної роботи отримано патент України №109792 (2016 р.) та видано інформаційний лист (№187-2017 р.).

Фрагменти результатів дисертаційної роботи впроваджено у наукового-педагогічний процес 3-х кафедр фармакологічного профілю різних медичних ЗВО України.

Повнота викладення матеріалів в опублікованих роботах, а також їх апробація. Основний зміст і положення представленої роботи обговорювалися на науково-практичних конференціях різного рівня. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 21 наукові праці, а саме: 6 статей, з них 5 у рекомендованих фахових виданнях України 1 у закордонному журналі бази Scopus, патент України на корисну модель, 1 інформаційний лист, 13 тез доповідей.

Обсяг і структура дисертації.

Представлена дисертаційна робота структурована за класичним принципом у відповідності до вимог МОН України. Обсяг основного тексту дисертації складає 153 сторінки. Вона складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, розділу матеріалів дослідження, 3 розділів власних досліджень, розділу “Аналіз та узагальнення результатів”, висновків, списку використаних джерел та додатків. Робота ілюстрована 24 таблицями, 44 рисунками. Список використаних джерел містить 261 найменування, з них 30 кирилицею та 231 латиницею.

У вступі викладено актуальність наукового напрямку, мета і завдання, методів дослідження, наукова новизна і практичне значення отриманих результатів, зв'язку роботи з плановою НДР, та описано особистий внесок здобувача у виконання дисертаційної роботи, перераховано наукові заходи, де проведена апробація результатів роботи, наведені кількість публікацій за матеріалами дисертації, її обсяг та структура.

Розділ.1. В огляді літератури розглядається, як невирішена медико-соціальна проблема ДЗЗП, що є важким тягарем для системи

охорони здоров'я України. В перших двох підрозділах автор висвітлює етіопатогенез захворювань пародонту, особливості їх фармакотерапії та узагальнює інформацію щодо існуючих препаратів на фармацевтичному ринку України їх недоліків та можливі шляхи оптимізації фармакотерапії. У третьому підрозділі висвітлено вагому роль лікарських рослин, а саме алое та дуба, та їх біологічно активних речовин у терапії захворювань пародонту. Наведені дані літератури обґрунтовують перспективність поєднання екстрактів алое та кори дуба, що дозволить отримати ефективний засіб для застосування у стоматології, який може впливати на різні ланки розвитку ДЗЗП та слизової порожнини рота і це обумовлює доцільність розробки даного об'єкту та його експериментального вивчення.

У розділі 2. «Матеріали та методи дослідження» дисертантом представлена характеристика дослідного об'єкту та препаратів порівняння, описані використані у роботі методи відтворення експериментальних моделей та оцінки ефективності досліджуваного препарату. Автором використано наступні експериментальні моделі: гостре карагенінове запалення лапи у щурів, лінійна різана рана, модель спонтанного гемолізу еритроцитів, модель «колодезів» (для вивчення антимікробної активності), модельні патології ДЗЗП – протаміновий пародонтит та модель ураження слизової порожнини рота – афтозний стоматит. Загалом застосовано фармакологічні, токсикологічні, біохімічні, мікробіологічні, гістологічні та статистичні методи досліджень. Всі представлені методи є адекватними поставленим завданням У дисертації використано 278 статевозрілих білих щурів, що є достатнім для отримання ґрунтовних результатів. Розділ також дає повну уяву про обсяг та послідовність експериментів.

Третій розділ дисертації присвячений скринінговим дослідженням пошуку оптимального складу нового гелю, що містить екстракти *Aloe arborescens* та *Cortex Quercus* та дослідженню фармакодинаміки нового гелю.

На моделі спонтанного гемолізу еритроцитів за Jager F.C. дисертантом встановлена оптимальна мембранопротекторна доза сухого екстракту алое (СЕА) 3 г/кг, яка зменшувала ступінь гемолізу еритроцитів у 1,8 рази ($p < 0,001$) відносно групи контролю, та вірогідно на 28 % ($p < 0,05$) перевищувала антиоксидантну і мембраностабілізуювальну дію еталонного антиоксиданта токоферола ацетату.

Оптимальний склад густого екстракту кори дубу (ГЕКД) встановлений при вивченні антимікробної активності у складі гелевої основи за впливом на розмноження еталонних тест-штамів (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 885/653). Доза ГЕКД 5% виявила максимальну антимікробну дію на тест-штами мікроорганізмів.

Вивчення фармакодинаміки нового гелю, що містить ГЕКД та СЕА включало дослідження протизапальної, ранозагоювальної та антимікробної дії. На моделі гострого карагенінового набряку лапи у щурів доведено

потужну протизапальну активність нового гелю, максимум якої приходить на перші години запалення. На моделі лінійної різаної рани автором встановлено, що новий гель збільшує міцність рубця у 1,6 рази ($p < 0,001$) відносно групи контрольної патології, та за репаративною активністю вірогідно перевищує на 23% препарат порівняння мазь календули. Підтверджена значна антимікробна активність нового гелю, але вона за впливом на специфічні патогени для порожнини рота поступається дії препарату порівняння - гелю Метрогіл дента, окрім протигрибкової дії, за якою перевищує активність препарату порівняння.

У четвертому розділі дисертаційної роботи представлені результати дослідження ефективності нового гелю, що містить екстракти *Aloe arborescens* та *Cortex Quercus* за умов деструктивно-запальних захворювань пародонту.

Проведеними дослідженнями ефективності нового гелю за умов протамінового пародонтиту показано, що препарат вірогідно знижує клінічну симптоматику пародонтиту (гіперемію, набряк, ерозивно-некротичні зміни, лейкоцитоз, підвищення ШОЕ) на рівні препарату порівняння Метрогілу дента. Значною перевагою нового гелю перед препаратом порівняння Метрогіл дента встановлена його здатність впливати на активність еластази та відновлювати дисбаланс системи ПОЛ-АОС. Також досліджено, що новий гель, за умов протамінового пародонтиту чинить імуномодуючий вплив, нормалізує вміст ЦК середнього розміру, функціональну діяльність нервової системи на відміну від препарату порівняння Метрогіл дента.

Було встановлено, що за умов експериментального афтозного стоматиту нанесення нового гелю сприяло нормалізації всіх клінічних та біохімічних показників, зменшенню виразності деструктивно-запальних змін та більш швидкому загоєнню слизової оболонки порожнини рота, перешкоджало розвитку деструктивно-запальних змін у слизовій оболонці нижньої губи та ясен у 83,3% щурів, сприяло повному загоєнню виразкових пошкоджень, що підтверджено гістологічними дослідженнями.

У п'ятому розділі дисертації представлені результати з вивчення токсикологічного профілю нового гелю, що містить екстракти *Aloe arborescens* та *Cortex Quercus*.

Показано відсутність летальності у щурів в ході вивчення гострої токсичності при пероральному введенні діючих компонентів гелю, що дозволило віднести їх до VI класу токсичності – відносно нешкідливі речовини. Також доведено, що складові гелю екстракт кори дуба та екстракт алое за умов внутрішньоочеревинного введення відносяться до V класу токсичності «Практично нетоксичні речовини». Встановлено, що за показником вивчення гострої токсичності новий гель за умов внутрішньошлункового та наскірного нанесення відносяться до VI класу токсичності «Відносно нешкідливі речовини».

Встановлено, що новий гель за умов тривалого нанесення (1 місяць) у дозах 0,5 мл та 5 мл не чинить токсичного впливу на функції життєво важливих органів та систем організму дослідних тварин.

Отримані результати свідчать про широкі можливості застосування у клінічній практиці.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів» автором проведено ґрунтовну систематизацію отриманих результатів, проведено кореляції з даними наукових джерел й обґрунтовано загальні висновки. Дисертант продемонстрував глибокі знання у галузі лікування ДЗЗП, показав чітку логіку усього дослідження, окремо визначив механізми імунomodуючої, антиоксидантної та репаративної дії екстрактів алое та кори дуба за рахунок їх біологічно активних речовин, узагальнив переваги нового гелю при лікуванні ДЗЗП у порівнянні з гелем Метрогіл Дента, а також раціональні рекомендації щодо проведення поглиблених доклінічних досліджень з метою створення нового лікарського засобу пародонтопротекторної дії.

Зауваження щодо змісту й оформлення дисертації, завершеність дисертації в цілому. Дисертаційна робота виконана й оформлена на високому рівні, має теоретичну й практичну значущість. Однак при загальній позитивній оцінці дисертаційної роботи слід висловити такі зауваження:

1. В розділі дисертації "Аналіз та обговорення результатів", на сторінках: 151с 1,2 абзац; 154с 4 абзац; 155с 2 абзац; 166с 5 абзац немає посилань на літературу.
2. В розділі 3 дисертації на 86с в таблиці 3.1 вірогідність показників не винесена в примітки до таблиці та не має пояснення.

Зазначені зауваження не мають принципового характеру і суттєво не впливають на науково-практичну цінність дисертації, яка в цілому заслуговує високої оцінки.

У якості наукової дискусії бажано отримати відповіді на наступні запитання:

1. Поясніть доцільність вибору в Ваших дослідженнях препаратів порівняння Метрогіл дента, календули мазь, диклофенак гель?.
2. Назвіть на Ваш погляд подальшу перспективу досліджень дисертаційної роботи?.


Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Журенко Д.С. за темою: «Дослідження фармакологічної активності нового комбінованого гелю, що містить екстракти *Aloe arborescens* та *Cortex Quercus*» є завершеним науковим дослідженням. У дисертаційній роботі отримані нові науково обґрунтовані результати, що мають вагомое теоретичне та експериментальне вирішення актуальної наукової задачі, що полягає в обґрунтуванні складу, вивченні фармакологічної дії та профілю безпеки нового гелю, що містить сухий екстракт листя алое деревовидного та густий екстракт кори дуба.

Вважаю, що робота актуальна, має істотне значення для фармації, наукову новизну, практичну значимість, відповідає поставленій меті та задачам

Дисертаційна робота Журенко Дмитра Сергійовича «Дослідження фармакологічної активності нового комбінованого гелю, що містить екстракти *Aloe arborescens* та *Cortex Quercus*» повністю відповідає вимогам, передбаченими п.10 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету міністрів України № 167 від 6 березня 2019 року (зі змінами, затвердженими постановою КМУ від 21 жовтня 2020 р. № 979) відносно дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктор філософії за спеціальністю 226 – «Фармація» у галузі знань 22 – «Охорона здоров'я».

Офіційний опонент,

Професор кафедри органічного синтезу і нанотехнологій Національного технічного університету (Харківський політехнічний інститут)
доктор фармацевтичних наук, професор  Анатолій ГОРДІЄНКО

Підпис А. Гордієнка засвідчую:

Вчений секретар Національного технічного університету
(Харківський політехнічний інститут) Олександр ЗАКОВОРОТНИЙ

Підпис проф. Гордієнка А. засвідчую
Професор  Олексій ЗАКОВОРОТНИЙ

