

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

завідувача кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету, доктора біологічних наук, професора **ТРЖЕЦИНСЬКОГО Сергія Дмитровича** на дисертаційну роботу **ТОЛМАЧОВОЇ Карини Станіславівни** «Вивчення фармакологічної активності комплексів біологічно активних речовин з пагонів Багна звичайного», подану до спеціалізованої вченої ради ДФ 64.605.033 при Національному фармацевтичному університеті, що утворена наказом МОН № 494 від 30.04.2021 р. для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація»

Обґрунтування вибору теми дослідження. Хвороби органів дихання, зокрема й гострого бронхіту, залишаються найактуальнішою проблемою в сучасному світі. Проблеми поширеності захворювання дихальних шляхів підтверджуються офіційними даними Всесвітньої організації охорони здоров'я. Ще однією актуальною проблемою сьогодення є призначення та використання лікарських препаратів, які мають рівень доказовості своєї ефективності та безпечності. На ринку України спостерігається дефіцит лікарських засобів для симптоматичного лікування кашлю при гострому бронхіті, які мають потужну доказову базу. В основному на аптечних полицях можна зустріти імпорتنі препарати, які мають докази ефективності, отримані в результаті проведення якісних клінічних досліджень. Цей список складається з синтетичних препаратів, до речі більшість з них є рецептурними препаратами, та рослинні засоби, які мають ряд переваг: відпускаються без рецепта лікаря та можуть бути рекомендовані провізорами, безпечні, ефективні, мають політерапевтичну дію. Деякі рослинні препарати мають доказову базу ефективності при лікуванні гострого бронхіту, наприклад, рослинний препарат на основі Плюща - Проспан або Бронхипрет - комбінований препарат, до складу якого входить: трава чебрецю та корінь первоцвіту. Проте, лікування даними препаратами є доволі дорогим. Перелічені факти підтверджують актуальність дисертаційної роботи Толмачової Карини Станіславівни. Аптечні полиці мають поповнюватися новими рослинними ефективними та безпечними безрецептурними препаратами для лікування гострого бронхіту. Автор дисертаційної роботи разом з науковим керівником вирішили досліджувати рослину, яка з давніх часів використовується як протикашльовий засіб – багно звичайне. Незважаючи на багатотисячолітню історію використання рослини, на сьогодні не існує жодної готової лікарської форми на основі багна звичайного. Варто

сказати, що природні рослинні ресурси України дозволяють використовувати дану рослину. Дисертант досліджувала не просто сировину пагонів багна звичайного, а нові одержані на кафедрі фармакогнозії НФаУ під керівництвом О. М. Кошового галенові та новогаленові екстракти.

Метою дисертаційною роботи К. С. Толмачової стало експериментальне обґрунтування доцільності використання екстрактів з пагонів багна звичайного для лікування гострого бронхіту

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Робота виконана в межах науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету з проблеми МОЗ України «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (№ держреєстрації 0114U000956), у яких дисертант є співвиконавцем.

Наукова новизна отриманих результатів. Дисертаційна робота містить низку положень, які формують наукову новизну.

У роботі вперше проведено фармакологічне вивчення протикашльової та антимікробної дії 6 галенових та новогаленових екстрактів з пагонів багна звичайного.

Вивчено протизапальну активність екстрактів № 2 та № 5 на моделі каррагенінового та зимозанового запалення.

Виявлено екстракт-лідер (екстракт № 5) та проведено ряд експериментальних досліджень: вивчення нешкідливості засобу, бронхолітичної, протизапальної дії за умов «гострого бронхіту», досліджено вплив екстракту на центральну-нервову систему щурів.

Дисертантом доведено, що галеновий екстракт № 5 є малотоксичною речовиною, яка володіє протикашльовою активністю, перевершуючи препарат порівняння Проспан, має антибактеріальні властивості по відношенню до збудників, які найчастіше викликають захворювання дихальних шляхів, проявляє бронхолітичні властивості та зменшує запалення легень, що експериментально підтверджено у досліді на моделі «гострого бронхіту» у щурів.

Практичне значення отриманих результатів. Результати досліджень наведені у дисертаційній роботі використані для формування досє лікарського препарату для лікування захворювань дихальної системи на бельгійському заводі Вирpharmexport (сертифікат впровадження від 10.12.2019).

Результати експериментальних досліджень галенових та новогаленових екстрактів, одержаних з пагонів багна звичайного впровадженні у науково-дослідницьку та науково-педагогічну роботу кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця (протокол № 99 від 06.02.2020 р.), кафедри фармацевтичної, токсикологічної, біологічної та токсикологічної хімії Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця (протокол № 12 від 07.02.2020 р.), кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією Української медичної стоматологічної академії (протокол № 15 від 16.03.2021 р.), кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету (протокол № 4 від 26.03.2021 р.), кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. Пирогова (протокол № 13 від 23.04.2021 р.).

Дисертантом разом з науковим керівником видано інформаційний лист «Винахід новогаленового фітокомплексу з пагонів Багна звичайного для лікування захворювань органів дихання» (№ 54, Київ, 2021 р.).

Оцінка змісту дисертації та її оформлення. Дисертаційна робота викладена на 198 сторінках та складається з анотації українською та англійською мовами, змісту, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження» та 3 розділів з результатами власних експериментальних досліджень, висновків, списку літератури (всього 168 літературних посилань, з яких 89 – кирилицею та 79 – латиною). Обсяг основного тексту дисертації складає 127 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 15 таблицями та 28 рисунками

Ступінь обґрунтованості та достовірності 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. Результати вдало представлені таблицями та ілюстровані рисунками. Загальні висновки до дисертації викладені чітко, стисло і повністю відображають результати проведеної роботи, а їх достовірність не викликає сумніву. Матеріал, представлений у дисертаційній роботі Толмачової К.С., є новим та перспективним для впровадження у практичну фармацію.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах. Дисертанткою за матеріалами та результатами дисертаційних досліджень опубліковано 23 наукові праці: 5 статей, з яких 4 у фахових

виданнях України та 1 стаття опублікована в періодичному науковому виданні держави, яка входить до Організації економічного співробітництва та розвитку (Естонія), 15 тез доповідей, отримано 2 патенти України на корисну модель та 1 інформаційний лист, 1 заявка на винахід. Результати дисертації були оприлюднені на 16 міжнародних науково-практичних конференціях.

Аналіз основного змісту роботи, ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків. Дисертація К.С. Толмачової має традиційну структуру та складається з анотації на двох мовах: на українській та англійській, вступу, 5 розділів, аналізу та узагальнення результатів, загальних висновків, списку літератури та додатків. Список використаних джерел складається з 168 найменувань, з яких 90 кирилицею та 78 латиницею. Робота ілюстрована 15 таблицями та 28 рисунками.

Вступ містить дані щодо актуальності теми, мети та завдання дослідження, об'єкту і предмету дослідження, методів дослідження, наукової новизни, практичного значення, особистого внеску здобувача, апробації результатів дисертації, обсягу і структури, публікації.

У **розділ 1** дисертантка розкриває сучасні уявлення про етіологічну структуру, патогенез та фармакотерапію гострого бронхіту. Звертає увагу на сучасні протоколи лікування, які базуються на доказовій медицині, авторка наголошує на обмеженість асортименту лікарських препаратів, розкриває переваги та недоліки кожного препарату представленого у протоколі. Дисертанткою обґрунтовано доцільності застосування нових рослинних препаратів на основі пагонів багна звичайного для лікування гострого бронхіту та проведено аналіз фармацевтичного ринку препаратів на основі рослини. Згідно результатів аналізу ринку України, на сьогодні не існує жодного готового лікарського препарату на основі пагонів багна звичайного. Він випускається лише у вигляді фасованої сировини та входить до складу фітозбору від кашлю «Фітобронхол». Ці дані підтверджують актуальність теми дисертаційної роботи Толмачової К.С.

У **Розділі 2** традиційно описані матеріали та методи дослідження, які були проведені. Представлені об'єкти дослідження та наведений дизайн фармакологічного експериментального вивчення галенових та новогаленових екстрактів з пагонів багна звичайного. Дослідження проведено на достатній кількості тварин (використано всього: 428 тварин, з них 204 білі нелінійні щури, 204 мурчаки та 20 мишей обох статей), що утримувались відповідно до санітарно-гігієнічних норм (Guide for the care and use of laboratory animals, 2011). Експерименти були проведені згідно вимог Європейської конвенції з

захисту лабораторних тварин (Страсбург, 1986 р.), Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження», що засвідчено висновком Комісія з питань біоетики Національного фармацевтичного університету», протокол № 2 від 04.11.2019 р.

Розділ 3 дисертації присвячений скринінговим дослідженням 6 галеновим та новогаленовим екстрактам: вивчення протикашльової та антибактеріальної дії.

Вивчення протикашльової дії науковець проводила шляхом моделювання кашлю у мурчакі, інгалюючи тварин протягом 5 хвилин 17 % розчином лимонної кислоти. У якості препарату-референсу використовувала рослинний препарат Проспан, фармакологічний ефект якого виявився нижчим, аніж у екстрактів № 2 та № 5.

Також, у цьому розділі авторка проводила вивчення антибактеріальної активності 6 галенових і новогаленових екстрактів методом дифузії в агар у лабораторії біохімії мікроорганізмів та живильних середовищ Інституту мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова під керівництвом к. біол. н. Осолодченко Т.П. і встановила, що екстракт № 5, який продемонстрував високий протикашльовий ефект, має антибактеріальну дію до мікроорганізмів, які найчастіше викликають інфекційні захворювання органів дихання.

У **розділі 4** представлені результати дослідження протизапальної активності фітокомплексу № 2 та № 5 в діапазоні доз 25, 50, 75 та 100 мг/кг на моделі каррагенінового та зимозанового набряку. За даними дисертаційної роботи, обидва екстракти гальмують синтез медіаторів запалення, пригнічуючи синтез як лейкотрієнів, так і простагландинів.

Розділ 5 присвячений результатам спектру експериментального дослідження екстракту № 5, який авторка дисертації обрала в якості екстракту-лідера, визначивши умовно-терапевтичну дозу (50 мг / кг), полягаючись на отримані результати, описані у попередніх розділах.

Описано результати вивчення гострої токсичності екстракту, згідно яких екстракт-лідер є малотоксичною речовиною, який не впливає на динаміку маси тіла у мишей та не виявлено токсичного впливу на внутрішні органи.

Наведено результати дослідження бронхолітичної активності. Екстракт № 5 в порівнянні з контрольною групою, збільшує латентний період виникнення ознак бронхоспазму в мурчаків у 2 рази. Відзначено, що у досліджуваній групі не відмічалось гибелі або колапсу тварин.

Для вивчення специфічної активності екстракту № 5 з пагонів багна звичайного науковцями проведено вивчення протизапальних властивостей на моделі «гострого бронхіту» у щурів, ініційованим ендотрахеальним введенням 1 % розчину формаліну. Результати роботи обґрунтовані за допомогою лабораторних методів: визначення рівня лейкоцитів в БАЛ через 24 години перевищували показник групи ІК в 9,63 разу ($p < 0,05$), через 8 діб – в 3,0 разу ($p < 0,05$). В клітинному складі БАЛ відмічена значуще збільшення гранулоцитів (паличко- та сегментоядерних нейтрофілів, еозинофілів), моноцитів і зниження популяції лімфоцитів проти групи ІК. Такі зміни верифіковані у віддалений термін (8 доба досліду), що підтверджує виникнення запального процесу. Щури в групі, які отримували досліджуваний засіб достовірно знижувались лейкоцити в БАЛ, знижувалась кількість моноцитів і лімфоцитів в БАЛ, нормалізувалась кількість ЦІК в сироватці крові, СРБ та ЛФ. За ефективністю екстракт № 5 достовірно перевищив показники БАЛ препарату порівняння Проспану. Ефективність експериментальної терапії гострого бронхіту верифікована також при дослідженні гістоструктури повітряноносних шляхів та респіраторного відділу легень. Усі отримані результати демонструють сприятливий перебіг гострого бронхіту на тлі прийому екстракту № 5 з пагонів багна звичайного в режимі монотерапії.

Завершується 5 розділ описанням дослідження впливу екстракту-лідера на ЦНС у щурів. Правильним рішенням авторки та її наукового керівника було провести дане дослідження: відомо, що пагони багна звичайного мають здатність впливати на ЦНС, викликаючи запаморочення, окрім цього отримана інформація необхідна для подальшого оформлення інструкції до готового лікарського засобу. Вивчення впливу екстракту № 5 на реактивність щурів проводили в тестах «відкрите поле» та «піднесений хрестоподібний лабіринт». За результатами засіб не впливає на поведінково-емоційну реакцію у щурів. Тест «відкрите поле» показав, що щури у стресогенних умовах обох груп (контрольна та досліджувана) поводити себе аналогічно, маючи однаковий рівень емоційно-поведінкової реактивності, стратегію дослідницької та захисної поведінки, параметри звикання та ін. Під час тесту «Піднятий хрестоподібний лабіринт» з'ясували, що у щурів дослідної групи, яким вводили галеновий екстракт № 5, як і в контрольній групі, зберігалось почуття страху відкритого простору.

Аналіз та узагальнення результатів. Висновки. Дисертантка підбиває підсумки отриманих результатів, наведених у попередніх розділах дисертації. Висновки узагальнюють результати власних досліджень, вони є цілком

обґрунтованими та логічними, що свідчить про досягнення поставленої мети та завдань праці.

Тому, дисертаційну роботу можна вважати завершеною, яка заслуговує позитивної оцінки.

Список використаних джерел. Оформлений згідно чинних вимог, який містить 168 найменувань (90 кирилицею, 78 – латиницею).

Зауваження щодо змісту та оформлення дисертації, завершеність дисертації в цілому

Дисертаційна робота оформлена за чинних вимог та містить всі необхідні ознаки актуальності, наукової та практичної значущості. Текст дисертації викладено українською мовою з дотриманням наукового стилю. Слід відзначити точність, ясність і стислість наукової мови дисертації. Матеріал викладений грамотно, ґрунтовно. Результати роботи вірогідні, висновки не викликають заперечень. Автореферат повністю відповідає положенням дисертації

В цілому принципівих недоліків дисертаційна робота не має, однак є деякі зауваження:

1. У розділі 1 доцільно було б навести інформацію про сучасний асортимент безрецептурних лікарських препаратів для лікування гострого бронхіту, зокрема кашлю, представлених на ринку України, які нині користуються попитом.
2. На мою думку, більш доцільним було б розділ 2 розділити на підпункти: 2.1 Характеристика об'єктів дослідження; 2.2 Загальна методологія дослідження; 2.3 Методика дослідження протикашльової активності; 2.4 Методика дослідження антимікробної активності; 2.5 Методика дослідження протизапальної активності; 2.6 Методика дослідження гострої токсичності; 2.7 Методика дослідження бронхолітичної активності; 2.8 Методика дослідження терапевтичної ефективності; 2.9 Методика дослідження емоційно-поведінкових реакцій, тощо.
3. У дисертаційній роботі всі рисунки повинні бути однакового розміру.
4. В дисертаційній роботі рідко, але зустрічаються окремі граматичні і стилістичні помилки та невдалі вислови.

Але в цілому наведені зауваження не мають суттєвого значення і не знижують наукову цінність дисертаційної роботи та не впливають на її загальну позитивну оцінку

При рецензуванні роботи до дисертантки виникли наступні запитання:

1. Обґрунтуйте, будь ласка, за якими параметрами Ви обрали екстракт-лідер. За Вашими результатами екстракти № 2 та № 5 мали аналогічну протикашльову та протизапальну активність, однак Ви виділили лише екстракт № 5. Чому?
2. Як Ви вважаєте, за рахунок яких речовин у екстракті № 5 проявляється протикашльова, протизапальна, антибактеріальна дія.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам. На підставі вищевикладеного вважаю, що дисертаційна робота Толмачової Карини Станіславівни «Вивчення фармакологічної активності комплексів біологічно активних речовин з пагонів Багна звичайного» за формою і змістом, актуальністю, повнотою поставлених і вирішених завдань, сукупністю нових наукових результатів є завершеною працею, в якій отримані нові науково обґрунтовані результати, що в сукупності розв'язують конкретну наукову проблему у галузі створення та подальшого вивчення рослинного препарату для лікування гострого бронхіту. За своєю новизною, об'ємом проведених досліджень та за рівнем виконання і впровадженням представлена дисертація відповідає вимогам пункту 10 «Тимчасового порядку присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою КМУ від 6 березня 2019 р. № 167 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами КМУ від 21 жовтня 2020 р. № 979 та від 9 червня 2021 р. № 608), а її авторка - Толмачова Карина Станіславівна заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація».

Офіційний опонент:

завідувач кафедри

фармакогнозії, фармакології

та ботаніки Запорізького

державного медичного

університету,

доктор біологічних наук,

професор

ГРЖЕЦИНСЬКИЙ Сергій Дмитрович

Підтверджую
завідувач кафедри Запорізького
державного медичного університету
20__ р. Підпис