

ВІДГУК

опонента доктора медичних наук, професора, завідувачки відділу фармакології ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» **Серединської Наталії Миколаївни** на дисертаційну роботу **Горопашної Дарини Олександрівни** за темою: **«Фармакологічне дослідження протизапальних, кардіопротекторних та нейротропних властивостей нативного та модифікованого L-аргініном екстрактів пагонів малини (*Rubus idaeus* L.)»**, подану до захисту у спеціалізовану вчену раду PhD 8315 при Національному фармацевтичному університеті МОЗ України, що утворена наказом Національного фармацевтичного університету від 28.03.2025 р. № 48-Адм. для 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. В останні роки серед лікарів та пацієнтів зростає зацікавленість до використання фітозасобів для лікування низки захворювань внутрішніх органів. Численним фітозасобам притаманні поліфармакологічні властивості, що дозволяє їхнє застосування за патологічних станів різного генезу. Згідно з даними ВООЗ, що оприлюднені в матеріалах «Стратегія ВООЗ в області народної медицини (2014-2023) р.», майже 80 % населення Землі використовує препарати рослинного походження.

Серед традиційних фітозасобів, що широко застосовуються в офіційній та народній медицині в Україні і в численних країнах світу, є малина звичайна (*Rubus idaeus* L.). Багатовекторний спектр фармакологічних властивостей листя, плодів та пагонів малини звичайної зумовлений її хімічним складом. Малина звичайна є фармакопейним засобом і традиційно застосовується як протизапальний, жарознижувальний, вітамінний засіб.

Одним із сучасних напрямів фармації є модифікація фітозасобів за допомогою амінокислот, що здійснюється для підвищення фармакологічної активності фітозасобів. Актуальним шляхом модифікації фармакологічної

активності фітозасобів є використання L-аргініну, про що свідчать дані літератури. Тому дисертаційна робота Горопашної Д. О. «Фармакологічне дослідження протизапальних, кардіопротекторних та нейротропних властивостей нативного та модифікованого L-аргініном екстрактів пагонів малини (*Rubus idaeus* L.)», відповідає сучасним тенденціям науки.

Сировинна база для отримання пагонів малини є достатньою, що зумовлено щорічною обрізкою пагонів, що відплодоносили.

Мета і завдання дисертаційної роботи чітко сформульовані і дозволяють охопити вирішення проблеми. Дослідження впливу нативного та модифікованого L- аргініном екстрактів пагонів малини на запальний процес, ураження міокарда та функціональний стан ЦНС, що ставиться за мету роботи, дозволило дисертантці коректно сформулювати сім завдань.

Наукова новизна отриманих результатів. Аспекти наукової новизни сформульовані коректно, їх кількість та кваліфікаційні ознаки відповідають нормативним вимогам. Дисертанткою вперше проведено порівняльний аналіз фармакодинаміки нативного (ЕПМ) та модифікованого L- аргініном (РубусАрг) екстрактів пагонів малини на різних експериментальних моделях запалення та ураження міокарда. Вперше порівняно протизапальні властивості ЕПМ та РубусАрг з дією екстрактів листя малини та доведено переваги їх використання відносно екстрактів листя малини. За результатами проведеного молекулярного докінгу було теоретично розраховано ЕД₅₀ за протизапальною активністю, що була підтверджена у дослідях на тваринах. Було встановлено наявність кардіопротекторних властивостей ЕПМ та РубусАрг за експериментального інфаркту міокарда у щурів, викликаного введенням адреналіну та гідрокортизону, за доксорубіцинової кардіоміопатії, за метаболічного синдрому у щурів, індукованого введенням фруктози. Новітні дані отримані дисертанткою за дослідження нейротропних ефектів екстрактів в інтактних тварин та вивчено вплив лікарської форми гранул РубусАрг як потенційного нейротропного засобу. Доведено позитивний вплив РубусАрг в лікарській формі гранули на перебіг вегетативних реакцій.

Наукова новизна дисертаційної роботи підтверджена патентами України на корисну модель № 157904 від 11.12.2024 та №158347 від 01.07.2024.

Теоретичне і практичне значення отриманих результатів. Одержані дисертанткою результати є теоретичним підґрунтям для створення різних лікарських форм на основі нативного та модифікованого екстрактів пагонів малини, що мають широкий спектр фармакологічної дії, а також сприятливий профіль безпеки. Встановлення ролі модифікації екстрактів амінокислотами може бути підґрунтям для розробки нових, високоефективних засобів терапії.

Матеріали дисертаційної роботи впроваджено у навчальний процес кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського», кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, а також у виробничий процес ТОВ "Здравофарм", про що свідчать відповідні акти впроваджень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана за планом науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956), в якій дисертант є співвиконавцем.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих в дисертації. На основі ретельно проведеного аналізу робіт закордонних та вітчизняних авторів за темою дисертаційної роботи, дисертанткою виявлені недосліджені аспекти щодо фармакологічної активності пагонів малини. Аналітичний підхід до даних літератури дозволив дисертантці сформулювати передбачення про різні види фармакологічної активності у пагонів малини та про можливе посилення їх фармакологічних ефектів за умови модифікації з використанням

L-аргініну. Авторка дисертації вирішила використати низку сучасних методів дослідження протизапальної активності екстрактів ЕПМ та РубусАрг, їхньої кардіо- та нейромодуючої дії. Правильність та конструктивність вибору відповідних моделей запалення моделей ураження серцево-судинної системи, усвідомлення дисертанткою критеріальних точок, що характеризують фармакологічну дію обраних об'єктів дослідження, дозволили вирішити низку поставлених завдань. Використані методи статистичного аналізу забезпечили достовірність та репрезентативність отриманих автором результатів. Об'єм проведених експериментальних досліджень є цілком достатнім для досягнення поставленої мети і вирішення завдань дисертаційного дослідження. Кількість експериментальних методик відповідає завданням дослідження. Сформульовані висновки впливають із отриманих фактичних результатів.

Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності. Ознак порушень принципів академічної доброчесності мною, як опонентом, не відзначено.

Загальні відомості про структуру дисертації та аналіз її змісту.

Дисертаційна робота Горопашної Дарини Олександрівни є закінченою науковою роботою, яка побудована за традиційною схемою наукових рукописів відповідно до чинних вимог, викладена на 165 сторінках основного комп'ютерного тексту і складається з анотації, вступу, огляду літератури, розділу із описом матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел, який включає 210 бібліографічних описів, додатків. Робота ілюстрована 28 таблицями і 25 рисунками.

В *анотації* дисертації українською та англійською мовами стисло представлено основні результати дослідження із зазначенням наукової новизни та практичного значення. Сукупність ключових слів відповідає основному змісту наукової праці, відображає тематику дослідження і забезпечує тематичний пошук роботи.

Вступ має загальноприйнятий порядок висвітлення матеріалу. У цій частині роботи повністю розкриті такі пункти, як актуальність теми, мета та завдання дослідження, об'єкт і предмет дослідження, методи дослідження, наведена наукова новизна та практичне значення отриманих результатів, висвітлено особистий внесок дисертантки, апробацію матеріалів дисертації, публікації, обсяг і структуру дисертації.

Огляд літератури присвячено ботанічній характеристиці, хімічному складу та застосуванню в медицині малини звичайної (*Rubus idaeus* L.). Огляд літератури містить 2 підрозділи, у яких наведено дані щодо складу біологічно-активних речовин малини, особливостям їх впливу на організм та застосування препаратів малини звичайної у медицині. Використовуючи останні дані вітчизняної та зарубіжної літератури, дисертантка демонструє добре розуміння проблеми, повністю висвітлюючи її найважливіші аспекти. Огляд написано коректно, стисло, зрозуміло. Це дає підстави твердити, що дисертантка ретельно опрацювала літературу за темою дисертації, що дозволило їй не лише обрати перспективний та актуальний напрям власних досліджень, а й окреслити актуальні питання щодо доцільності створення нових лікарських засобів та лікарських форм з рослинних компонентів, зокрема, з пагонів малини.

У розділі *«Матеріали і методи дослідження»* надано характеристику використаних фітосполук та препаратів порівняння, наведено детальний опис експериментальних моделей, що використовувались дисертанткою та дані щодо проведеного молекулярного докінгу.

Усі експериментальні дослідження були схвалені комісією НФаУ з біоетики, про що свідчать відповідні протоколи. Дисертанткою було застосовано комплексний підхід із застосуванням токсикологічних, фармакологічних, біохімічних, морфологічних, нейрофізіологічних і статистичних методів досліджень, метод молекулярного докінгу, що забезпечують достовірність отриманих результатів дослідження.

Результати власних досліджень розподілені за трьома розділами.

У *третьому* розділі дисертаційної роботи «Дослідження токсикологічних властивостей нативного та модифікованого екстракту пагонів малини звичайної (*Rubus idaeus* L.)» дисертантка наводить результати дослідження гострої та підгострої токсичності нативного та модифікованого L- аргініном екстрактів пагонів малини звичайної за умов внутрішньошлункового введення мишам та щурам. Встановлено, що нативний та модифікований L- аргініном екстракт пагонів малини відносяться до практично нетоксичних речовин (IV класу токсичності сполук за класифікацією Hodge та Sterner – $LD_{50} > 5000$ мг/кг). За результатами підгострої токсичності, використання даних екстрактів пагонів малини впродовж 28 діб не викликало летальних наслідків, не спричиняло суттєвих змін фізіологічного стану тварин, змін основних біохімічних показників і маси тіла.

У *четвертому* розділі дисертації «Експериментальне вивчення протизапальних властивостей нативного та модифікованого L- аргініном екстракту малини звичайної» міститься 3 підрозділи. В них надано дані щодо порівняльного дослідження протизапальної активності пагонів малини звичайної та екстрактів листя малини звичайної на моделях карагенінового набряку у щурів. Доведено більш високу ефективність 60% водно-спиртового екстракту пагонів малини (ЕПМ) перед іншими екстрактами пагонів та листя малини.

Проведений молекулярний докінг щодо протизапальної і антиоксидантної дії мажорних компонентів екстракту пагонів малини звичайної – (+)-катехіну та епікатехіну – переконливо довів перевагу застосування іонізованих форм (+)-катехіну та дозволив теоретично розрахувати дозу за даними активностями, що була підтверджена в експерименті на моделях карагенінового та зимозанового набряку у щурів.

Дисертанткою було встановлено, що модифікований L- аргініном екстракт пагонів малини (умовна назва – РубусАрг) був ефективнішим за нативний екстракт пагонів малини (ЕПМ) та діяв у дозі, що була у 4 рази

меншою за дозу ЕПМ.

Проведені дослідження на моделях карагенінового та зимозанового набряку у щурів дозволили припустити наявність у даних екстрактів впливу на лейкотриєнову та простагландинову фазу набряку. Досліджені екстракти за антиексудативною дією були активніші ніж катехін, кверцетин, а на перших годинах карагенінового набряку та за зимозанового набряку вірогідно перевищували ефект диклофенаку натрію. Ці дані свідчать про наявність у досліджених екстрактах антиексудативної дії.

У *п'ятому* розділі дисертаційної роботи «Дослідження кардіопротекторних та нейротропних властивостей нативного та модифікованого L-аргініном екстрактів пагонів малини» наведено дані щодо ефективності застосування нативного та модифікованого L-аргініном екстрактів пагонів малини за умов адреналін-гідрокортизонового інфаркту міокарда у щурів, доксорубіцинової кардіоміопатії у щурів, метаболічного синдрому, індукованого введенням фруктози, а також на інтактних тваринах досліджено низку нейротропних властивостей даних екстрактів.

Встановлено, що, попри різноманітні чинники індукованих пошкоджень, усіх їх об'єднує активація процесів вільнорадикального окиснення. Наявність у ЕПМ та РубусАрг антиокислювальних властивостей, за думкою дисертанта, сприяє зменшенню уражень міокарда, інтенсивності цитолізу та інтоксикації, сприяє покращенню показників ЕКГ. За своєю активністю вони перевищували ефективність катехіну та кверцетину.

За експериментального метаболічного синдрому екстракти пагонів малини покращували показники вуглеводного та ліпідного обміну. За впливом на показники вуглеводного обміну РубусАрг тенденційно наближався до препарату порівняння метформіну та перевищував ефект катехіну та кверцетину, а за впливом на показники ліпідного обміну, ЕПМ та РубусАрг перевищували ефект усіх препаратів порівняння.

За низки проведених нейрофізіологічних досліджень встановлено наявність у РубусАрг та ЕПМ помірної стимулювальної дії на показники

локомоторної та дослідницької активності без інтенсифікації емоційного та вегетативного супроводу поведінкових реакцій. Вивчення лікарської форми гранул РубусАрг, до складу яких входили екстракт пагонів малини звичайної, L-аргінін та інозитол, свідчило, що РубусАрг чинить легку протитривожну дію та зменшує інтенсивність вегетативного супроводу поведінкових реакцій.

Розділ *«Аналіз та узагальнення результатів»* містить інформацію щодо порівняння власних результатів досліджень з даними, що висвітлені у джерелах вітчизняної та зарубіжної літератури. Він написаний цікаво, з усвідомленням актуальності питання, що досліджувалося, з аналітичним підходом до трактовки результатів власних досліджень. Особливо цінним матеріалом цього розділу дисертації є міркування дисертантки щодо значення виявлених нею особливостей дії екстрактів пагонів малини, щодо механізмів реалізації фармакологічних ефектів. Особливого значення набувають передбачення дисертантки щодо «вкладу» до різних видів фармакологічної активності того чи іншого компонента пагонів малини. Цікавим і добре усвідомленим авторкою роботи є твердження про переваги саме екстрактів пагонів малини над окремими компонентами, що входять до їх складу.

Загальні *висновки* дисертаційної роботи (12 висновків) відповідають поставленим завданням та узагальнюють результати проведених експериментальних досліджень. Представлені узагальнення є науково обґрунтованими.

Список використаних джерел наведено у алфавітному порядку, оформлено відповідно до чинних вимог.

У 5 *додатках* представлені список публікацій здобувача та апробація роботи, дані щодо двох наявних деклараційних патентів, акти впровадження результатів дослідження в науково-педагогічний процес кафедр закладів вищої освіти України та ТОВ «Здравофарм», а також деякі таблиці та рисунки.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях.

Матеріали дисертації відображені у 18 наукових працях, з яких 2 статті у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 3 – в іноземних періодичних виданнях, індексованих в SCOPUS, 1 стаття у закордонному виданні, 2 деклараційні патенти та 10 публікацій у матеріалах конференцій. В опублікованих працях повністю висвітлено усі найвагоміші результати дисертаційного дослідження.

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

У експериментальних дослідженнях використано достатню кількість лабораторних тварин, методик та інформаційних показників. Дисертаційна робота виконана на достатньо високому методологічному рівні з використанням сучасних методів досліджень, які дозволяють зробити чіткі висновки. Достовірність матеріалів, представлених у дисертаційній роботі, сумнівів не викликає. Теоретичні припущення та висновки дисертаційної роботи ґрунтуються на результатах низки проведених власних досліджень і повною мірою відображають отримані результати досліджень.

Це дає підставу стверджувати, що за структурою та змістом дисертація відповідає вимогам, що ставляться до даного виду робіт.

Зауваження, що стосуються оформлення і змісту дисертації та анотації

Дисертаційна робота не має вагомих недоліків у викладенні та аналізі матеріалу, що доводить відсутність зауважень принципового характеру. Водночас, слід зауважити, що деякі речення за текстом сформульовані нечітко, є граматичні та стилістичні помилки. Вважаю за необхідне побажати авторці роботи в подальшій роботі спланувати дослідження щодо порівняльного аналізу фармакологічних ефектів за застосування різних доз екстрактів пагонів малини, що дозволить визначитися з найбільш ефективною дозою за виробництва препарату.

Подальші дослідження бажано спрямувати на з'ясування ефективності екстрактів пагонів малини за патології ЦНС, що дозволить розширити спектр потенційного застосування препарату(ів).

Зважаючи на різний патогенез уражень міокарда, вочевидь, доцільно більш коректно відноситися до думки про єдиний (загальний для усіх досліджених патологічних станів) механізм їхнього виникнення та розвитку.

Привертає увагу певна перевантаженість роботи, зокрема, дослідженнями ефективності екстрактів пагонів малини на тлі метаболічного синдрому. Розуміючи намагання авторки отримати найбільш повну інформацію щодо їхньої фармакологічної ефективності, все ж таки висловлю думку, що вплив екстрактів на різні види метаболізму є окремим актуальним та глибоким питанням для дослідження і, врешті-решт, результати такого дослідження могли би сфокусувати можливі інші (додаткові) сфери застосування потенційного препарату.

Зазначені зауваження та пропозиції не зменшують науково-практичного значення роботи та не впливають на позитивну оцінку дисертаційної роботи Горопашної Д. О.

За опрацювання дисертаційної роботи у мене, як в опонента, виникають наукові думки щодо механізмів дії, зокрема, пагонів малини, щодо використаних методів дослідження, щодо обґрунтування показань для застосування екстрактів. Обговорення результатів роботи, наукової позиції авторки дисертації може виявитися корисним для уточнення подальших наукових спрямувань дисертантки. Тому *вважаю за доцільне поставити дискусійні питання.*

У порядку дискусії вважаю за необхідне поставити такі запитання:

1. Чому дослідження токсичності ЕПМ і РубусАрг було проведено на самицях щурів?

2. Якими міркуваннями обґрунтований (зумовлений) вибір декількох моделей для дослідження протизапальних властивостей екстрактів пагонів та листя малини?

3. На Вашу думку, за яким механізмом реалізується більш високий, порівняно до активності диклофенаку натрію, антиексудативний ефект досліджених екстрактів пагонів малини?

4. Чи є кардіопротекторний та нейротропний ефекти досліджених екстрактів пагонів малини специфічними? Чи властиві ці ефекти листю малини та/або іншим рослинам? Завдяки яким компонентам пагонів малини, здебільшого опосередковуються зазначені ефекти? Чим обумовлені відмінності дії ЕПМ від РубусАрг?

Висновок щодо відповідності дисертації вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії». Дисертаційна робота Горопашної Дарини Олександрівни «Фармакологічне дослідження протизапальних, кардіопротекторних та нейротропних властивостей нативного та модифікованого L- аргініном екстрактів пагонів малини (*Rubus idaeus* L.)» є закінченою, самостійною науково-дослідною роботою в якій досягнута основна мета та виконані завдання дослідження, в якому отримані нові науково обґрунтовані результати, що вносять свій вклад у вирішення актуальної наукової проблеми щодо фармакотерапії запальних процесів, кардіопатології, щодо можливості корегування вегетативних функцій шляхом використання нативного та модифікованого L- аргініном екстрактів пагонів малини.

За актуальністю, науковою новизною, практичним значенням, обсягом проведених досліджень, рівнем виконання, повнотою публікацій дисертаційна робота Горопашної Дарини Олександрівни «Фармакологічне дослідження протизапальних, кардіопротекторних та нейротропних властивостей нативного та модифікованого L- аргініном екстрактів пагонів малини (*Rubus idaeus* L.)» відповідає вимогам Постанови КМ України №44 «Порядок присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи

про присудження доктора філософії», а дисертант заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

Опонент:

доктор медичних наук,
завідувачка відділу фармакології
ДУ «Інститут фармакології та
токсикології НАМН України»

Наталія СЕРЕДИНСЬКА