

ВІДГУК

офіційного опонента

професора кафедри фармації Львівської медичної академії ім. А. Крупинського,
доктора фармацевтичних наук, професора Цубанової Наталі Анатоліївни

на дисертаційну роботу Богатирьової Олени Олегівни

«Експериментальне дослідження протизапальних властивостей сухих екстрактів лаванди вузьколистої (*Lavandula angustifolia* Mill.)», подану до захисту у спеціалізовану вчену раду PhD 8313 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. Запальна реакція та больовий синдром впевнено тримають перше місце, як основна причина звернення пацієнта до лікаря, через те що є провідним клінічним симптом більшості відомих захворювань як інфекційного так і неінфекційного генезу. За даними Kumar P. із співавт (2023), запальна реакція асоційована із мітохондріальною дисфункцією, оксидативним стресом та фактором раннього старіння. Важливим аспектом на думку Colasanto M. із співавт. (2021) є двосторонні зв'язки між прозапальним станом та депресією, що значно якість життя пацієнтів. Що стосується фармакокорекції запалення та болі, то за даними мета-аналізу Ma N. із співавт. (2023) провідною терапевтичною стратегією залишається застосування нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ), які рекомендовано призначати із ад'ювантною терапією, наприклад інгібіторами протонної помпи, з метою зниження ризиків розвитку побічних ефектів. Слід зазначити, що у групі НПЗЗ як не-селективні за інгібуванням ЦОГ-1 та ЦОГ-2 лікарські засоби (диклофенак, ібупрофен) так і високоселективні блокатори ЦОГ-2 (целекоксиб) не позбав-

лені негативних реакції (гастротоксичність або кардіотоксичність), що є обмеженням до їх застосування.

Розробка принципово нових засобів із протизапальною дією на основі моноклональних антитіл, наприклад, інфліксимаб, адалімумаб, рутиксимаб, не набули значного поширення застосування через їх високу ціну, значний перелік протипоказань, часті та серйозні побічні реакції та обмежені клінічні рекомендації щодо призначення (найчастіше лікування ревматоїдного артриту).

Вищезазначене обумовило повернення інтересу науковців до пошуку нових протизапальних засобів серед лікарської рослинної сировини (ЛРС). Так у дослідженні Zeng L. із співат. (2022) доведено високий протизапальний потенціал екстракту *Curcuma longa*, Pasupuleti M.K. із співат. (2023) декларують протизапальну дію *Glycyrrhiza glabra*, *Ficus religiosa*, *Plantago major*, Sienko A. із співат. (2024) - ресвератролу.

Перспективним об'єктом, з метою розробки нового протизапального засобу на основі ЛРС може бути *Lavandula angustifolia* Mill.

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

Дисертацію виконано за планом затвердженої МОЗ України науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956), в якій дисертант є співвиконавцем.

Обсяг та структура дисертації

Матеріали дисертації викладено на 245 сторінках комп'ютерного тексту. Дисертація складається з анотації українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 3-х розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел, який включає 211 посилань. Робота ілюстрована 20 рисунками та 40 таблицями.

Основний зміст дисертації та його оцінка

Вступ характеризується загальноприйнятим порядком викладення матеріалу. Дисертант актуалізує обрану проблематику, та акцентує увагу на питанні

фармакологічної регуляції запального процесу із застосуванням відомих НПЗЗ. Автор обґрунтовує доцільність створення нового протизапального засобу на основі екстрактів *Lavandula angustifolia* Mill., для якої відома седативна, антиоксидантна, аналгетична дія через широке застосування у альтернативній медицині. У вступі дисертантом сформульовано мету та задачі дослідження, наведено наукову новизну, практичне значення отриманих результатів, надано інформацію щодо публікацій та апробації результатів досліджень.

Огляд літератури складається із чотирьох підрозділів. У першому підрозділі «Досягнення і проблеми застосування НПЗЗ та місце диклофенаку» проаналізовано дані сучасних досліджень, щодо механізму дії НПЗЗ, наведено їх класифікації за хімічною, будовою, селективністю до ЦОГ, особливості фармакокінетики. У підрозділі 1.2 «Сучасні уявлення про побічні ефекти НПЗЗ» дисертант актуалізує питання ризиків при застосуванні протизапальних засобів та наводить терапевтичні стратегії зменшення побічних ефектів. Третій підрозділ огляду літератури присвячено визначенню перспективи застосування ЛРС лаванди вузьколистої. Наведено доступні фармакогностичні та фармакологічні дослідження лаванди вузьколистої, акцентовано, що найбільш вивченою є ефірна олія тоді як екстракт трави лаванди є принципово новим об'єктом фітохімічних та фармакологічних досліджень. У четвертому підрозділі проведено аналіз ринку товарів аптечного асортименту на основі сировини лаванди в Україні. Встановлено, що різні ЛФ що містять ЛРС лаванди мають різні терапевтичні властивості, так ефірні олії та капсули - для лікування тривожних розладів та безсоння; креми та мазі мають ранозагоювальну дію, фіточаї та екстракти рекомендовані для покращення травлення, назальні спреї та інгалятори – як допоміжний засіб при респіраторних захворюваннях. Детально проаналізовано фармацевтичний ринок із аналізом реєстрації ЛРС лаванди як ЛЗ, ДД або фіточаю. Додатково дисертантом проведено власні фармако-економічні дослідження, що суттєво збільшує науковий та аналітичний рівень огляду літератури.

У розділі **«Обґрунтування загальної концепції досліджень. Об'єкти, матеріали та методи досліджень»** дисертант дає обґрунтування напрямку дослідження та вибору об'єкту та предмету дослідження. Інформаційно-аналітичні дослідження проведено з використанням узагальнення, структурного, логічного, графічного методів.

Автор детально описує всі використані фармакологічні, мікробіологічні, токсикологічні, гістологічні, імунологічні, біохімічні методи дослідження та методи математичної статистики та планіметрії.

Експериментальні дослідження проведені у Навчально-науковій тренінговій лабораторії медико-біологічних досліджень НФаУ, що сертифікована ДП «Харківстандартметрологія» (посвідчення від 06.08.2021 № 01-0084) з використанням 442 щурів обох статей та 78 мишей. Біотичні аспекти досліджень схвалені комісією з питань біоетики НФаУ (протокол № 8 від 15.02.2023 р.).

Статистична обробка фактичного матеріалу проведена адекватними статистичними методами з використанням стандартного пакету програм STATISTICA (версія 6,0).

Запропонована дисертантом методологія проведення доклінічних досліджень відповідає сучасним вимогам до методичного рівня роботи.

Результати власних досліджень наведені у 3 експериментальних розділах.

Третій розділі дисертант присвятив вивченню гострої токсичності тест-зразків екстрактів трави лаванди. Вивчена гостра токсичність при внутрішньошлунковому введенні щурам трьох тест зразків, висвітлено відсутність їх токсичної дії у дозі 5 000 мг/кг, що дозволяє їх віднести до V класу токсичності «практично нетоксичні речовини».

У **четвертому розділі** наведені дані, щодо вивчення фармакологічних і властивостей сухих екстрактів трави лаванди вузьколистої. На даному етапі досліджень дисертантом проведено вивчення антимікробної активності трьох тест-зразків екстракту лаванди. Слід відзначити, що було вивчені, не лише мінімальні інгібуючі концентрації досліджуваного екстракту загально відомим методом дифузії в агар у модифікації «колодязів», але і досліджено вплив

на здатність руйнувати біоплівки та запобігати утворенню біоплівок для референс-штамів *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*.

На моделі гострого запалення лапи у щурів, індукованого карагеніном найбільш активну і стабільну антиексудативну активність продемонстрували тест-зразок №1 у дозі 100 мг/кг (50%) і тест-зразок №2 у дозі 150 мг/кг (52%). Підтвердженням протизапальної дії досліджуваних є результати отримані за умов відтворення зимозанового набряку.

Мембраностабілізувальна активність за умов спонтанного гемолізу еритроцитів встановлена для тест-зразка №1 у дозі 100 мг/кг, тест-зразка №2 у дозі 150 мг/кг і тест-зразка №3 у дозі 50 мг/кг. Додатково було вивчено вплив екстрактів-лідерів трави лаванди вузьколистої на спонтанний гемоліз еритроцитів на тлі гострого гепатиту у щурів, індукованого тетрахлорметаном та встановлено, що найбільш ефективним є тест-зразок №2 у дозі 150 мг/кг. Щодо впливу на осмотичну резистентність еритроцитів досліджувані тест-зразки лаванди виявляли мембраностабілізувальну дію практично на однаковому рівні.

В тесті «оцтовокислі корчі» у мишей, дисертантом доведено, що максимальну анальгетичну дію виявив тест-зразок №2 у дозі 150 мг/кг.

У п'ятому розділі за умов карагенінового запалення дисертантом досліджено у динаміці фармакологічна дія тест-зразків екстракту лаванди. Встановлено, що всі три екстракти у діапазоні доз 50-150 мг/кг чинять протизапальну дію, зменшують лейкоцитоз, нормалізують баланс ПОЛ-АОС та модулюють фагоцитарну активність нейтрофілів.

З метою поглибленого дослідження фармакологічного профілю екстрактів-лідерів лаванди вузьколистої, дисертантом було відтворено хронічний тетрахлорметановий гепатит.

Встановлено, що за виразністю впливу на метаболічні, цитолітичні та окисно-відновлювальні процеси екстракти *Lavandula angustifolia* Mill у діапазоні доз 50-150 мг/кг за низкою досліджених показників (МКП, виживаність тварин, активністю АлАТ, вмісту загального білка у сироватці крові щурів,

вмісту холестеролу в жовчі та сироватці крові) не поступаються референс-препарату кверцетину у дозі 50 мг/кг і силібору у дозі 100 мг/кг.

Гістологічні дослідження підтверджують гепатопротекторну дію досліджуваних екстрактів.

З метою обґрунтування безпеки застосування у клінічній практиці дисертантом було проведено вивчення токсикологічних властивостей тест-зразків лаванди вузьколистої у хронічному експерименті та встановлено відсутність токсичності.

Аналіз та узагальнення результатів викладені у відповідності з послідовністю завдань роботи та окремих розділів дослідження. Отримані результати ефективно проаналізовані, з поясненням механізмів дії кожного із встановлених фармакологічних ефектів екстракту лаванди. Логічний стиль викладу аналізу результатів, дозволив автору систематизувати отриманий матеріал і зробити науково обґрунтовані висновки, які відповідають поставленій меті і завданням дисертаційної роботи.

Список використаних джерел літератури містить 211 посилань, що оформлені відповідно до чинних вимог, 61% посилань за останні 10 років.

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

Дисертація Богатирьової О. О. виконана на належному науковому рівні із використанням сучасних методів дослідження, включаючи мікробіологічні, фармакологічні, імунологічні, токсикологічні, гістологічні та біохімічні показники. У експериментах використано достатня кількість лабораторних тварин, методик та визначення інформаційних показників.

Фактично отримані результати експериментальних досліджень оброблені із використанням адекватних статистичних методів. Достовірність отриманих результатів не викликає сумнівів. Експериментально отримані показники наведені у вигляді таблиць, рисунків та графіків.

Наукові положення і висновки дисертаційної роботи засновані на сучасних методологічних підходах та повністю відповідають поставленим завдан-

ням. Висновки є теоретично і експериментально обґрунтованими і логічно впливають з отриманих результатів. Теоретичні припущення, що робить автор та висновки дисертації базуються на результатах власних досліджень і цілком відображають отримані результати досліджень.

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

Наукова новизна одержаних результатів

У роботі теоретично обґрунтовано та експериментально доведено перспективи впровадження нового оригінального лікарського засобу із протизапальною дією на основі ЛРС лаванди вузьколистої українського походження.

Дисертантом вперше теоретично обґрунтовано доцільність розробки нового протизапального засобу для терапії запалення на основі екстрактів лаванди. Проаналізовано наявність на фармацевтичному ринку засобів на основі лаванди та особливості їх реєстрації (ЛЗ, ДД, фіточай).

Вперше встановлено, що тест-зразки лаванди, отримані екстракцією водно-етанольним розчином чинять значну антимікробну дію щодо *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*. Доведено вплив тест-зразків лаванди у концентрації 1 мг/мл на здатність мікроорганізмів (*S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*) зменшувати формування біоплівки та здатність руйнувати утворені патогенами біоплівки.

Експериментально вперше вивчено основні аспекти фармакодинаміки екстрактів лаванди вузьколистої. На моделях гострого карагенінового та зимозанового запалення встановлена потужна антиексудативна дія тест-зразків досліджуваних екстрактів лаванди у діапазоні доз 50-150 мг/кг. Доведено, що, найбільш стабільну антиексудативну активність за умов карагенінового набряку продемонстрували тест-зразки №1 у дозі 100 мг/кг (50%, $p < 0,05$) і №2 у дозі 150 мг/кг (52%, $p < 0,05$). На моделі гострого асептичного запалення, індукованого зимозаном, протизапальна дія встановлена для всіх тест-зразків екстракту лаванди.

При тривалому спостереженні, за умов карагенінового набряку, встановлено, що досліджувані тест-зразки лаванди мали різний ступінь протизапальної активності, що залежав від методу екстракції. Найбільш збалансований імуномодулювальний та протизапальний ефект спостерігався за застосування екстракту, отриманого 40% етанолом (тест-зразок №2), який ефективно знижував набряк, регулював фагоцитарну активність нейтрофілів та сприяв зменшенню оксидативного стресу.

Вперше, за спонтанного гемолізу еритроцитів, як у інтактних щурів, так і на тлі гострого тетрахлорметанового гепатиту, доведена мембраностабілізувальна активність у тест-зразка №2 (63%, $p < 0,05$) і №3 (58%, $p < 0,05$), які за ефективністю перевершували дію референс-препарату кверцетину на 19% і 14% ($p < 0,05$) відповідно, а тест-зразок №2 – α -токоферолу на 17% ($p < 0,05$). На тлі порушення осмотичного середовища еритроцитів досліджувані тест-зразки лаванди також продемонстрували мембраностабілізувальну дію на рівні кверцетину. Анальгетична дія тест-зразків екстракту лаванди встановлена на моделі «оцтовокислі корчі».

За умов тетрахлорметанового гепатиту підтверджена, дисертантом встановлена гепатопротекторна активність екстрактів лаванди за виразністю впливу на метаболічні, цитолітичні та окисно-відновлювальні процеси, що також підтверджено гістологічними дослідженнями.

Автором, вперше розширено уявлення про токсикологічний профіль екстрактів лаванди та вивчено гостру та хронічну (90 днів) токсичність.

Дисертантом отримано нові дані про перспективність української сировини лаванди вузьколистої як потенційного засобу для терапії запалення, обрано оптимальну технологію одержання екстрактів, доведено їх антимікробну, протизапальну, мембраностабілізувальну, анальгетичну та гепатопротекторну дію.

Практичне значення одержаних результатів

Розширено відомості про фармакологічні властивості та покази до медичного застосування ЛРС на основі трави лаванди вузьколистої. Результати проведених досліджень обґрунтовують доцільність створення оригінального засобу для терапії запалення на основі ЛРС лаванди вузьколистої.

Результати роботи впроваджені у науково-педагогічний процес кафедри фармацевтичної хімії НФаУ (протокол №5 від 27.11.2024 р.); кафедри медико-фармацевтичних дисциплін та БПР фармацевтів Донецького Національного медичного університету, кафедри фармацевтичних дисциплін Черкаської медичної академії (протокол №7 від 11.02.2025 р.) та ННПФ НФаУ (протокол №2 від 12.12.2024 р.).

Повнота викладу наукових положень дисертації в опублікованих працях

Матеріали дисертаційної роботи опубліковані у 5 статтях, які розміщені у фахових виданнях України, одна з них у базі Scopus. Основні положення дисертації оприлюднені на 12 наукових форумах різного рівня, відповідно опубліковано 12 тез доповідей. У роботі відсутні порушення академічної доброчесності.

Зауваження, що стосуються оформлення і змісту дисертації та анотації

Суттєвих недоліків в дисертаційній роботі та анотації не виявлено. Робота повністю відповідає сучасним вимогам щодо структури, змісту та технічного оформлення. Існують деякі недоліки, зауваження та дискусійні моменти:

1. В огляді літератури деякі посилання не відповідають змісту тексту (наприклад с.34 посилання № 20, 21,22; с.88 посилання №136 та деякі інші).
2. С. 36. у тексті мова про фізіологічну роль ЦОГ-1 і ЦОГ-2 із посиланням на табл.1.1, в якій наведено виключно фармакокінетичні характеристики НПЗЗ. Невідповідність таблиці згадуванню у тексті.
3. У підрозділі 1.1. «Досягнення і проблеми застосування НПЗЗ та місце диклофенаку» добре висвітлено загальні питання щодо НПЗЗ, але відповідно до назви підрозділу було б доцільно актуалізувати питання диклофенаку, надати

порівняльний аналіз його ефективності щодо інших НПЗЗ, пояснити чому саме він залишається «золотим» стандартом протизапальної терапії.

4. Весь блок антимікробних досліджень тест-зразків екстракту лаванди проведено без препарату порівняння, що не дає можливість оцінити вираженість антибактеріального ефекту. Доцільним було б взяти як референс-препарат антибактеріальний засіб, або засіб на основі ЛРС із вивченою та доведеною антибактеріальною дією.
5. Потребує пояснення проміжний висновок до підрозділу 4.1 «Прояв екстрактами антимікробної активності є перспективним як додаткова ланка у мультифакторній протидії симптомам неврологічного дефіциту» із самопосиланням на власне дослідження вивчення антимікробної дії екстракту (17. *Lavandula angustifolia* Mill. of Ukrainian origin: a comparative study of the chemical composition and antimicrobial potential of herb extracts / O. Bogatyrova).
6. Потребує пояснення у розділі «Аналіз та узагальнення результатів» за рахунок яких ймовірних механізмів дії тест зразок №2 екстракту лаванди у дозі 150 мг/кг вірогідно перевищує анальгетичну активність одного із найефективніших ненаркотичних анальгетиків Метамізолу натрію у тесті «оцтовокислі корчі».
7. Препарат порівняння «Анальгін» бажано давати під МНН «Метамізолу натрієва сіль», а не під торгівельною назвою (розділ 4).
8. У розділі «Матеріали та методи» дисертант вказує що вимірювання об'єму лапи при моделюванні карагенінового набряку буде на 1, 3, 4, 6, 24 години тоді як фактичних даних на 24 годину немає (табл. 4.10).
9. Карагеніновий набряк змодельований 1 кратним введенням карагеніну (с.74 та с.82) у четвертому розділі дисертант називає гострим карагеніновим запаленням, тоді як у п'ятому розділі - це вже «субхронічне локальне запалення», тоді як різниця є лише у терміні введення досліджуваного екстракту, і від цього експериментальна модель, яка не має відмінностей моделювання запалення не стає субхронічним запальним процесом.

10. У переліку використаних джерел під № 100 вказано 2 джерела літератури.

Наведені зауваження принципово не змінюють загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи. У плані дискусії хотілося б почути думку дисертанта з наступних питань:

1. В огляді літератури згадано диклофенак натрію та диклофенак калію. Чи мають дві ці сполуки різницю у ефективності або безпеки застосування?
2. Поясніть за рахунок яких патогенетичних механізмів гострий локальний карагеніновий набряк характеризувався збільшенням лейкоцитів на 4 добу у 3,8 рази, а на 7 добу у 4 рази відносно інтактного контролю.

Висновки

Дисертація Богатирьової Олени Олегівни «Експериментальне дослідження протизапальних властивостей сухих екстрактів лаванди вузьколистої (*Lavandula angustifolia* Mill.)» є закінченою, самостійною науково-дослідною роботою.

Дисертаційна робота містить науково обґрунтовані положення з фармакології, що в сукупності становлять суттєвий внесок до вирішення актуального науково-практичного завдання фармакології, що полягає у розробці та дослідженні нового засобу на основі лаванди вузьколистої для терапії запалення різної етіології.

За актуальністю, науковою новизною, практичним значенням, обсягом проведених досліджень, рівнем виконання, повнотою публікацій дисертаційна робота Богатирьової Олени Олегівни «Експериментальне дослідження протизапальних властивостей сухих екстрактів лаванди вузьколистої (*Lavandula angustifolia* Mill.)» відповідає вимогам Постанови КМ України №44 «Порядок присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присуджен-

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

Офіційний опонент

Професор кафедри фармації

Львівської медичної академії ім. А. Крупинського,

доктор фармацевтичних наук,

професор

Н. А. Цубанова