

## ВІДГУК

**офіційного опонента доктора фармацевтичних наук, старшого наукового співробітника**

**Гордієнка Анатолія Дмитровича**

на дисертацію **Михайлюка Євгенія Олеговича** на тему «Фармакологічна активність нових похідних 4-R-5-(алкіл-, арил-, гетерил-)-1,2,4-тріазолу при експериментальному токсичному гепатиті» подану до спеціалізованої Вченої ради Д.64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті МОЗ України на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

### **Актуальність обраної теми.**

Лікування і профілактика захворювань печінки є однією з актуальних проблем сучасної медицини.

За даними ВООЗ на захворювання печінки страждають до 30 % населення планети.

В Україні за останні роки захворюваність на гепатити зросла на 76,6%, що обумовлено погіршенням екологічного стану, постійно зростаючим забрудненням середовища викидами промислових підприємств, відсутністю адекватного належного контролю за продуктами харчування, токсичними ураженнями лікарськими препаратами, зловживанням алкоголем, погіршенням матеріального становища більшості населення.

Фармакотерапія захворювань печінки у теперішній час залишається недостатньо ефективною, у зв'язку з чим особливого значення набуває застосування патогенетичних лікарських засобів.

Асортимент лікарських засобів, що застосовуються в комплексній терапії захворювань печінки, налічує більше 1000 найменувань. Однак серед такого різноманіття препаратів виділяють порівняно невелику групу, що мають вибірково дію на печінку – гепатопротекторів. Дія гепатопротекторів спрямована на відновлення гомеостазу в печінці, підвищення стійкості органа до впливу патогенних факторів, нормалізацію функціональної активності та стимуляцію репаративно-регенеративних процесів.

Звертаючи увагу на велику кількість побічних ефектів сучасних препаратів з гепатопротекторними властивостями актуальним залишається пошук нових безпечних та високоєфективних лікарських засобів.

Новий оригінальний високоєфективний лікарський засіб тіотриазолін (морфоліній 3-метил-1,2,4,-тріазолін-5-тіоацетат), розроблений вченими України проявляє гепатопротекторні властивості, має достатню доказову базу своєї ефективності при лікуванні гепатитів різних етіологій, як гострої, так і хронічної форми. Тіотриазолін гарно зарекомендував себе при застосуванні при алкогольних гепатитах, що є великою проблемою вітчизняної медицини. Зважаючи на наведене велику зацікавленість у

пошуку високоефективних та безпечних гепатопротекторних засобів викликають гетероциклічні системи, зокрема похідні 1,2,4-тріазолу.

**Зв'язок теми дисертації з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота Є.О.Михайлюка виконана на кафедрі клінічної фармації, фармакотерапії та управління і економіки фармації факультету післядипломної освіти Запорізького державного медичного університету МОЗ України згідно з планами проблемної комісії «Фармакологія» МОЗ України та науково-дослідної роботи Запорізького державного медичного університету за темою: «Гіполіпідемічна активність нових похідних п'яти- та шестичленних азагетероциклів і фітопрепаратів при гіперліпідемії та маркетингові дослідження ринку антиатеросклеротичних засобів» (номер державної реєстрації 0111U005855), у якій автор є співвиконавцем.

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

*Обґрунтованість* наукових положень і висновків дисертації ґрунтується на достатньо великому обсязі експериментальних результатів, їх всебічному аналізі в рамках сучасних підходів і класичних положень фармакології і токсикології.

Отримані результати базуються на достатній кількості досліджень, проведених на тваринах (753 нелінійних білих щурах самцях). В роботі використано 3 моделі гострого гепатиту (тетрахлорметановий, парацетамоловий та етаноловий), цілком адекватних клінічним ситуаціям.

Гепатопротекторну дію досліджуваних та референтного препарату тіотриазоліна оцінювали за достатньо інформативними показниками в сироватці крові та тканині печінки (активність АлАТ, АсАТ, лужної фосфатази,  $\gamma$ -глутамілтранспептидази, вміст ТБК - реактивних продуктів, дієнових кон'югатів, триєнових кон'югатів, тригліцеридів, загального холестерину,  $\alpha$ -токоферолу, морфологічними показниками в печінці та ін.), які характеризують перебіг токсичних гепатитів.

Фактичний матеріал достатньо повно ілюстрований таблицями та рисунками. Всі теоретичні узагальнення та висновки дисертації базуються на результатах власних досліджень і повністю відображають закономірності, які були виявлені в ході проведених досліджень. На підставі цього вважаю, що наукові положення та висновки даної дисертації є цілком обґрунтованими, узгодженими з метою та задачами дослідження.

Матеріал дисертаційної роботи викладений логічно та послідовно, характеризується внутрішньою узгодженістю викладених результатів.

*Достовірність* отриманих у роботі результатів не викликає сумнівів, оскільки базується на сучасних інформативних методах досліджень, коректним обробленням отриманих даних із залученням сучасного програмного забезпечення та основ метрології і статистики.

**Наукова новизна отриманих результатів.**

На підставі результатів комп'ютерного прогнозування, і в умовах фармакологічного експерименту уперше обґрунтована доцільність пошуку гепатопротекторних засобів серед похідних 1,2,4-тріазолу.

Для 3 похідних 1,2,4-тріазолу (під шифрами 2.8, 2.11 та 2.27) встановлена найбільш виражена гепатопротекторна дія, які значуще гальмували цитоліз гепатоцитів в порівнянні з тіотриазоліном за зниженням активності АлАТ.

Встановлено параметри гострої токсичності нових похідних 1,2,4-тріазолу при внутрішньошлунковому введенні, які за класифікацією токсичності речовин К.К. Сидорова належать до групи "малотоксичних речовин" (ЛД<sub>50</sub> знаходиться у інтервалі 668 – 2430 мг/кг).

Показано, що виявленню гепатопротекторної дії у більшості речовин сприяє приєднання гетерильного залишку по 5-му положенню тріазолу, солі які містять алкільний радикал за N<sub>4</sub> атомом тріазолового ядра проявляли найнижчу токсичність.

З досліджених похідних 1,2,4-тріазолу відібрана найбільш активна речовина 4-аміно-5-(фуран-2-іл)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіол (сполука 2.8), яку було рекомендовано для подальших доклінічних випробувань.

Доведено більш виражену гепатопротекторну дію сполуки 2.8 в умовах гострого парацетамолового гепатиту та субгострого алкогольного гепатиту ніж у препараті порівняння тіотриазоліну.

За результатами проведених досліджень отримано патент України на корисну модель (Пат. № 87589 МПК С07D 473/12. Морфолін 2-(4-(2-метоксіфеніл)-5-(пірідін-4-іл)-4Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетат, який виявляє гепатопротекторну активність / Є. О. Михайлюк, І. М. Білай, А. Г. Каплаушенко, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш; Заявл. 17.09.2013; Опубл. 10.02.2014, Бюл. № 3.

### **Значущість праці для науки та практики.**

Приведений в результаті скринінгу аналіз структура –токсичність – фармакологічна активність в ряду похідних 1,2,4-тріазолу може бути використаний для конструювання нових молекул з заданими фармакологічними властивостями.

За результатами отриманих даних запропоновано спосіб лікування алкогольного гепатиту у щурів.

Результати дисертаційної роботи впроваджено в навчальний процес кафедр фармакології та клінічної фармації і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.

### **Оцінка змісту дисертації та її оформлення.**

Дисертаційна робота побудована за традиційною схемою, викладена на 168 сторінках друкованого тексту й складається з вступу, огляду літератури, розділу "Матеріали та методи дослідження", трьох розділів власних

досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел літератури (298 джерел, з них 150 – кирилицею та 148 – латиною). Фактичний матеріал ілюстрований 36 таблицями та 22 рисунками.

### **Повнота викладу результатів дисертації в опублікованих працях**

Наукові положення, висновки та практичні рекомендації викладені в опублікованих працях і виходять із результатів досліджень, викладених у розділах дисертації.

**У вступі** обґрунтована актуальність теми роботи, сформульовані мета та завдання дослідження, вказано наукову новизну, розкрито практичне значення отриманих результатів, та показаний особистий внесок здобувача, публікації та де здійснена апробація результатів дисертації.

**В огляді літератури** проаналізовано та узагальнено літературні дані стосовно досліджуваної теми, сучасні уявлення про етіологію та патогенез токсичних гепатитів, наведена характеристика сучасних препаратів з гепатопротекторними властивостями та приклади фармакологічної активності похідних 1,2,4-тріазолу. У цілому, огляд літератури написаний досить кваліфіковано.

**Розділ «Матеріали та методи»** написаний досить докладно. В розділі містяться дані про структуру 37 вперше синтезованих похідних 4-R-5-(алкіл-, арил-, гетерил-)-1,2,4-тріазолу. Для своїх досліджень автор залучав широкий арсенал біохімічних, фізіологічних, фармакологічних, токсикологічних, морфологічних та статистичних методів, що забезпечують комплексність оцінки гепатопротекторної дії та безпечності похідних 4-R-5-(алкіл-, арил-, гетерил-)-1,2,4-тріазолу. Широкий перелік сучасних методів дослідження, обґрунтована постановка експериментів дозволяє зробити висновок про цілеспрямований підхід дисертанта до вирішення поставлених у роботі завдань і дозволяє високо оцінити методичну частину дисертації.

**Третій розділ** присвячений комп'ютерному прогнозуванню фармакологічних властивостей та гострої токсичності похідних 1,2,4-тріазолу та визначенню гострої токсичності при внутрішньошлунковому шляху їх введення. Серед 37 досліджуваних сполук 8 сполук виявляли гепатопротекторну активність з інтервалом ймовірності 53,0 % – 92,8 %.

Встановлено, що нові похідні 1,2,4-тріазолу *in vivo*, за класифікацією токсичності речовин К.К. Сидорова належать до групи "малотоксичних речовин", при внутрішньошлунковому введенні (ЛД<sub>50</sub> знаходиться у інтервалі 668 – 2430 мг/кг).

**У наступному четвертому розділі дисертації представлені** результати експериментів з визначення гепатопротекторної та гіполіпідемічної дії похідних 1,2,4-тріазолу за умов гострого тетрахлорметанового гепатиту.

Було показано, що як препарат порівняння тіотриазолін, так і вивчаємі синтетичні речовини по різному проявляли гепатозахисні властивості на вказаній моделі патології. Найбільшу гепатопротекторну активність проявляла сполука 2.8 (4-аміно-5-(фуран-2-іл)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіол), яка

перевищувала препарат порівняння тіотриазолін за здатністю відновлювати цілісність мембран гепатоцитів, що супроводжувалось зниженням активності АлАТ в 1,2 разу та не поступалася за показником зниження активності  $\gamma$ -ГТ та ЛФ у сироватці крові. За гіпотригліцеридемічною активністю сполука 2.8 перевищувала препарат порівняння. В подальшому сполуку 2.8 було використано для проведення специфічних фармакологічних досліджень.

**У п'ятому розділі** представлені результати дослідження гепатопротекторної та антиоксидантної активності 4-аміно-5-(фуран-2-іл)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіол (сполуки 2.8) при гострому тетрахлорметановому, парацетамоловому гепатиті та субгострому алкогольному гепатиті.

На моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту було встановлено, що сполука 2.8 у дозі  $1/5$  ЛД<sub>50</sub> за гепатопротекторною і гіпотригліцеридемічною дією перевершує препарат порівняння тіотриазолін.

Визначена середньоєфективна доза сполуки 2.8 за антиоксидантної активністю, яка складає 23,21 мг/кг, що в 2 рази менше за середньоєфективну дозу тіотриазоліну.

На моделі гострого парацетамолового гепатиту доведено виражену гепатопротекторну дію сполуки 2.8, яка перевищувала препарат порівняння за рахунок зменшення цитолізу гепатоцитів, усунення явищ холестазу, пригнічення процесів ПОЛ.

Застосування сполуки 2.8 за умов алкогольного гепатиту призводило до ефективнішого за тіотриазолін відновлення гепатоцитів, що супроводжувалось більш виразним зниженням активності ферментів АсАТ, АлАТ, вмісту ТБК-АП, ДК та ТК. Морфологічно спостерігалось відновлення гепатоцитів, форми печінкових балок, глікогенсинтетичної функції, зменшення явищ жирової дистрофії та тілець Маллорі, посилення адаптативно-компенсаторних механізмів.

У роботі застосовані сучасні статистичні методи аналізу з використанням ліцензійної програми, що дозволило правильно інтерпретувати експериментальні дані і зробити обґрунтовані висновки.

Таблиці та рисунки, які є в дисертації, логічно доповнюють її основний зміст. Достатня кількість використаних літературних джерел, глибина їх аналізу та вміле використання при написанні дисертації свідчать про гарну орієнтованість автора в проблемах, вирішенню яких присвячена робота. Висновки дисертації логічно випливають з результатів дослідження і повністю відповідають положенням, які були сформульовані в цілі і завдання дослідження. Фактичний матеріал добре систематизований. Робота написана чіткою науково-літературною мовою, добре оформлена, список літератури складається головним чином з сучасних наукових джерел.

#### **Ідентичність змісту автореферату й основних положень дисертації.**

Автореферат дисертації Михайлюк Є.О. повністю відображає її зміст. Результати роботи опубліковані у 5 фахових вітчизняних виданнях рекомендованих ДАК України у вигляді наукових статей та 1 міжнародній

статті і зроблені доповіді на профільних науково-практичних конференціях і конгресах різних рівнів.

### **Зауваження щодо змісту дисертації.**

Поряд з цим до роботи є деякі запитання та зауваження:

Із зауважень слід виділити наступні:

- Вживані в дисертації (с.92) та авторефераті дисертації (с.14,19) терміни антицитолітичні ферменти АсАТ, АлАТ правильно було б вказати ферменти цитолізу АсАТ, АлАТ
- В дисертації (с.66,78,80) замість сполуки помірно, найкраще, не значно зменшують активність ферментів (АсАТ, АлАТ), "рівень" ЗХС та ТГ правильно було б написати значуще або не значуще зменшують активність ферментів (АсАТ,АлАТ), а замість знижується "рівень" ЗХС та ТГ знижується "вміст" ЗХС та ТГ, замість знижується "рівень" продуктів ПОЛ ТБК-АП і ДК – знижується "вміст" продуктів ПОЛ ТБК- АП і ДК
- В розділі дисертації "аналіз та узагальнення результатів досліджень" (с.123,124) відсутні посилання
- Подекуди трапляються орфографічні та синтаксичні помилки, думки в деяких реченнях висловлені нечітко.

Запитання, які виникли в процесі рецензування:

- Чому були вибрані «парацетамолова» та «алкогольна» моделі гепатитів, та в чому їхня різниця?
- Чим обумовлене вивчення гіполідемічної активності при дослідженні похідних 1,2,4-тріазолу?
- Які механізми гепатопротекторної дії у досліджуваній у Вашій роботі сполуки 2.8?

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

### **Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.**

Отже можна дійти висновку, що дисертаційна робота Михайлюка Є.О. «Фармакологічна активність нових похідних 4-R-5-(алкіл-, арил-, гетерил-)-1,2,4-тріазолу при експериментальному токсичному гепатиті» є завершеною науково-дослідною працею, у якій розв'язана актуальна наукова задача і отримані нові науково обґрунтовані результати, що в сукупності вирішують проблему пошуку нових безпечних похідних 4-R-5-(алкіл-, арил-, гетерил-)-1,2,4-тріазолу з гепатопротекторною активністю для фармацевтичної науки.

За актуальністю, новизною, практичним значенням, ступенем опублікування та загальним науковим рівнем робота повністю відповідає

вимогам "Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника»",

затвердженого Постановою Кабінета Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, які ставляться до кандидатських дисертацій, а її автор, Михайлюк Євгеній Олегович, безумовно, заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05-фармакологія.

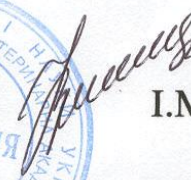
### Офіційний опонент

Професор кафедри фармакології  
та токсикології Харківської державної  
зооветеринарної академії  
МОН України,  
доктор фармацевтичних наук,  
старший науковий співробітник



А.Д. Гордієнко

Підпис А.Д. Гордієнка засвідчую.  
Начальник відділу кадрів  
Харківської державної зооветеринарної академії



І.М. Москаленко