

ВІДГУК

офіційного опонента, завідувача кафедри медичної та біоорганічної хімії

Харківського національного медичного університету

доктора фармацевтичних наук, професора, Сирової Ганни Олегівни

на дисертацію Матюшкіної Марини Володимирівни за темою:

«Фармакологічна активність нових координаційних сполук металів з

лимонною кислотою», представлену на здобуття наукового ступеня

кандидата фармацевтичних наук

за спеціальністю 14.03.05 – «Фармакологія» у спеціалізовану вчену раду

Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті

Актуальність обраної теми

Питання створення, пошуку і вивчення ефективних і безпечних біологічно активних речовин є актуальним для сучасної фармації. Враховуючи постійне зростання кількості пацієнтів з хворобами нервової системи, в тому числі з нейроінфекціями, актуальною стає проблема пошуку таких лікарських засобів, які могли б діяти як на етіологію нейроінфекційних процесів, попереджати неврологічні ускладнення, так і лікувати їх.

На сьогодні перспективним напрямком сучасної фармації є керований синтез біологічно активних речовин зі спрямованою фармакологічною активністю. З даних літератури відомо, що у процесах обміну речовин найважливішу роль має біокаталіз, а порушення металолігандного гомеостазу сприяє розвитку патологічних станів. Порушення взаємодії між ендогенними лігандами і металами, що входять до складу найважливіших ферментів, призводить до виникнення різноманітних патологічних процесів. Тому фармакологів цікавить питання створення комплексних сполук з іонами металів. Особливо зросла роль металокомплексів у хіміотерапії інфекційних процесів у зв'язку з їх високою антимікробною активністю до мікроорганізмів, які не чутливі до антибіотиків.

Відомо, що в останні роки проводяться дослідження противірусних властивостей металокомплексів. У зв'язку з тим, що при створенні нових металокомплексів, вибір металу залежить від його біологічної активності і від фармакологічних властивостей похідних, то дисертантом обрано сполуки Магнію, Германію, Стануму і Кобальту. Відома біологічна роль лимонної кислоти, що є субстратом циклу Кребса, та те, що з нею було синтезовано координаційні сполуки металів. Аналіз властивостей складових (Mg, Co)біс(цитрато)германатів(IV)(станатів)(IV) став підґрунтям наявності можливих фармакологічних ефектів цих сполук. Метою дисертаційної роботи Матюшкіної М.В. стало експериментальне обґрунтування доцільності пошуку ефективних та безпечних нейротропних сполук з протимікробними та противірусними властивостями серед цілеспрямовано синтезованих координаційних сполук металів з лимонною кислотою (Mg, Co)біс(цитрато)германатів(IV)(станатів) для лікування ускладнень нейроінфекцій.

Приймаючи до уваги вищенаведене, обрану дисертантом тему дослідження слід вважати актуальною.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації

Дисертаційна робота Матюшкіної М.В. «Фармакологічна активність нових координаційних сполук металів з лимонною кислотою» виконана на сучасному науковому рівні з використанням адекватних методів дослідження, великої кількості лабораторних тварин, добре валідованих експериментальних моделей. Статистичний аналіз отриманих даних виконано на належному методичному рівні.

Результати та основні положення дисертації досить переконливі, їх достовірність не викликає сумнівів. Наукові положення та висновки дисертації є обґрунтованими та узгодженими з метою і задачами дослідження.

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

Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи кафедри загальної та клінічної фармакології Одеського національного медичного університету (ОНМедУ) МОЗ України за темою «Пошук і комплексне вивчення фармакологічного профілю нових біологічно активних речовин метаболічного походження і ксенобіотиків» (№ держреєстрації 0110U006658), дисертант є співвиконавцем цієї теми.

Основний зміст дисертації та його структура

Дисертаційна робота М.В. Матюшкіної написана за класичним принципом у відповідності до вимог МОН України. Вона містить наступні розділи: анотація, зміст, перелік умовних позначень, вступ, огляд літератури (має три підрозділи), матеріали і методи дослідження (має сім підрозділів), три розділи власних експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів, висновки (їх дев'ять), список використаних джерел літератури, додатки. Основний текст дисертації складає 161 сторінку друкованого тексту. Робота ілюстрована 45 таблицями, 38 рисунками. Бібліографія містить 380 джерел, з яких 237 кирилицею і 143 латиною. Отже, структура та обсяг роботи відповідає вимогам МОН України.

Анотація до дисертаційної роботи оформлена згідно з вимогами наказу № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертації».

У **вступі** дисертант обґрунтовує вибір теми, мету і задачі дослідження, актуальність наукового напрямку, формулює зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, наукову новизну, практичне значення одержаних результатів та описує особистий внесок у виконання дисертаційної роботи, перераховує наукові заходи, де проведено апробацію результатів роботи, наводить кількість публікацій за матеріалами дисертації, структуру та обсяг дисертаційної роботи.

В огляді літератури, який складається з трьох підрозділів, наведено узагальнення даних літератури, які містять результати наукових робіт як вітчизняних, так і закордонних вчених. Інформація, представлена в огляді літератури, віддзеркалює переваги та сучасні фармакологічні аспекти металокомплексів, дисертант звертає увагу на те, що шляхи пошуку нових лікарських засобів включають моделювання біологічно активних координаційних сполук. Автор акцентує увагу на тому, що на сьогодні особливо актуальним є пошук нових антимікробних та противірусних засобів і, в результаті аналізу літературних джерел, автор приходиться до висновку, що пошук потенційних протимікробних засобів доцільно проводити серед координаційних сполук металів. Відомо, що грип та гострі респіраторні вірусні інфекції становлять 95% всіх інфекційних захворювань. Існуючи на сьогодні противірусні фармпрепарати мають побічні реакції, тому пошук нових противірусних засобів є актуальним. Дисертант звертає увагу на те, що вибір металу для створення нових металокомплексів залежить від їх біологічної активності. Автор аналізує фармакологічні властивості комплексних сполук Германію, Магнію, Стануму і Кобальту та приходиться до висновку відносно їх перспективності. При цьому аналізується велика кількість літературних джерел. Дисертантом проаналізовано фармакологічні властивості лимонної кислоти, яка є головним проміжним продуктом метаболічного циклу трикарбонових кислот.

Таким чином, здобувачем проаналізовано властивості складових (Mg, Co)біс(цитрато)германатів(IV)станатів(IV) і показано доцільність вивчення фармакологічних і токсикологічних властивостей цих нових створених сполук.

Матеріали та методи дослідження включають стисло характеристику методичних підходів, що застосовувалися при виконанні роботи. В роботі надані методики синтезу та фізико-хімічні методи дослідження чотирьох нових металокомплексів: комплексних сполук з лимонною кислотою (Mg, Co)біс(цитрато)германатів(станатів). Методики розроблено на кафедрі

загальної хімії і полімерів Одеського національного університету ім. І.І. Мечнікова МОН України під керівництвом з.д.н.т. України, д.хім.н., проф. І.Й. Сейфулліної. В роботі використаний широкий арсенал фармакологічних, токсикологічних, мікробіологічних, вірусологічних, морфологічних, статистичних методів дослідження. Далі послідовність в другому розділі така: описано методи оцінки токсичності нових комплексних сполук, фармакологічні, мікробіологічні, вірусологічні, морфологічні, статистичні методи дослідження.

Дисертаційна робота ілюстрована схемою, в якій наведено дизайн дослідження (структурована логічна послідовність експериментальних досліджень), що дозволяє високо оцінити методичну частину дисертації. Дослідження проведено на 154 білих мишах лінії ISR обох статей та 2068 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар, які утримувалися на стандартному водно-харчовому раціоні при вільному доступі води та їжі в експериментально-біологічній клініці ОНМедУ МОЗ України з дотриманням міжнародних та національних біоетичних норм та принципів, що засвідчено висновками комісії з біоетики ОНМедУ.

У **третьому розділі** представлено фізико-хімічні властивості чотирьох нових комплексних сполук, які містять по два метали та біоліганд (Mg, Co)біс(цитрато)германати(станати): Германій і Магній з лимонною кислотою – «Гермацит», Германій і Кобальт з лимонною кислотою – «Геркоцит», Станум і Магній з лимонною кислотою – «Станмацит», Станум і Кобальт з лимонною кислотою – «Станкоцит». Дисертант наводить результати елементного та рентгенофазного аналізів, термогравіметрії, інфрачервоної спектроскопії та рентгеноструктурного аналізу, за допомогою яких визначено будову нових сполук. Автором визначено діапазон, в якому знаходяться верхні та нижні межі летальності, вивчено гостру токсичність гермациту, геркоциту, станмациту, станкоциту у мишей та щурів при різних шляхах введення (внутрішньочеревинно та перорально), встановлено параметри, які характеризують ступінь потенційної та реальної небезпеки

гострого смертельного отруєння магній біс(цитрато)германатом, кобальт біс(цитрато) германатом, магній біс(цитрато)станатом(IV), кобальт біс(цитрато) станатом(IV). Встановлено параметри гострої токсичності та небезпеки нових сполук для людини, одержаних на основі екстраполяції експериментальних даних.

Дисертантом встановлено, що досліджувані сполуки є практично безпечними і перспективними для подальшого поглибленого вивчення їх біологічної активності як потенційних лікарських засобів. Матюшкіна М.В. вивчила також токсичність чотирьох нових комплексних сполук при повторних введеннях.

Четвертий розділ дисертаційної роботи Матюшкіної М.В. присвячено вивченню нейротропної активності (Mg, Co)біс(цитрато)германатів(станатів) в експерименті. Дисертантом вивчено як впливають нові синтезовані сполуки на рухову активність щурів в тесті «відкрите поле», встановлено, що гермацит, станмацит, геркоцит, станкоцит дозозалежно ($1/80 > 1/110 LD_{50}$) мають депримууючий вплив на ЦНС. Дисертантом встановлено, що достовірний депримууючий ефект протягом експерименту спостерігався при застосуванні станмациту і геркоциту та був практично однаковим при введенні доз $1/80$ та $1/110 LD_{50}$, тому їх виділено, як лідери цього дослідження. Наступний підрозділ присвячений вивченню впливу нових синтезованих сполук на підвищену та знижену рухову активність тварин за умов сумісного введення їх зі стандартними збуджуючим (амфетаміну сульфат) та депримууючим (діазепам) препаратами. За виразністю дії досліджені комплексні сполуки можна розташувати так: станкоцит \approx станмацит $>$ геркоцит $>$ гермацит, тобто станумвмісні сполуки виявилися лідерами, вони більш ефективно пригнічували вплив сполук в тесті «відкрите поле» на амфетамін-викликане збудження тварин. Отже, біс(цитрато)германати(станати) проявили антагонізм з амфетаміном, що може бути пов'язано з блокадою центральних норадренергічних та дофамінергічних рецепторів, що знаходяться на рівні стовбурових та

середньомозкових утворень мозку. Досліджені комплексні сполуки дозозалежно підсилювали в тесті «відкрите поле» у щурів діазепам-викликане пригнічення рухової активності. Максимальну потенціуючу дію до діазепама сполуки виявляли в дозі $1/80 LD_{50}$. Дисертантом встановлено лідери, це германійвмісні сполуки: гермацит > геркоцит > станмацит \approx станкоцит. Підсилення депримуєчого впливу діазепама може бути пов'язано з впливом сполук на бензодіазепінові рецептори постсинаптичного ГАМК_A-рецепторного комплексу, які розташовані переважно в підкоркових частинах мозку.

Дисертант вивчив вплив біологічно активних речовин на виразність «тіопенталового сну» у щурів. Встановлено, що (Mg, Co) біс(цитрато)германати (станати) гіпнотичної дії не мають, але дозозалежно потенціують розвиток «тіопенталового сну» та пролонгують його тривалість. Лідером виявлено геркоцит.

Матюшкіна М.В. вивчила як впливають досліджені комплексні сполуки на агресивно-захистну та конфліктну поведінку щурів. В дисертаційній роботі встановлено, що (Mg, Co)біс(цитрато)германати(станати) дозозалежно мали протитривожну активність (найбільш ефективною була доза $1/80 LD_{50}$); проявляли антиконфліктні властивості та анксиолітичну дію.

Автором дисертаційної роботи вивчено вплив досліджуваних комплексних сполук на умовну реакцію активного уникнення (УРАУ), короткострокову і довгострокову пам'ять. Встановлено, що досліджені комплексні сполуки в залежності від дози та складу впливають на мнестичні функції та вироблення УРАУ. Лідером дослідження за ноотропною ефективністю та за антиамнестичним ефектом виявився геркоцит. Наявність у германійвмісних сполук ноотропної дії пояснюється їх ГАМК-міметичним механізмом, а у станумвмісних – наявністю як дофаміно-, так і адреноблокуючих центральних ефектів.

Автором дисертаційної роботи встановлено, що досліджувані станумвмісні сполуки дозозалежно впливали на апоморфін-індуковану

стереотипну поведінку у щурів (максимальний ефект виявляли в дозах 1/80 та 1/110 LD₅₀). Лідером виявлено станкоцит > станмацит. Комплексні сполуки з германієм практично не виявили ефекту в даній серії дослідів.

Матюшкіна М.В. вивчила вплив дослідних комплексних сполук на м'язовий тонус та координацію рухів лабораторних тварин в тестах «стрижень, що обертається» та «підведена сітка». Встановлено, що всі досліджені сполуки в залежності від складу і дози впливали і на м'язовий тонус, і на координацію рухів щурів. Лідером дослідження став станмацит: станмацит > станкоцит > гермацит > геркоцит. У зв'язку з тим, що в основі нейротропних ефектів біологічно активних сполук лежить модуляція процесів збудливості мозку, то дисертант вивчив, як впливають досліджені комплексні сполуки на перебіг гострих судомних реакцій, викликаних конвульсантами, що мають різні механізми судомної дії. Автор вивчив вплив (Mg, Co)біс(цитрато)германатів(станатів) на вираженість гострих пентилентетразол-індукованих, пікротоксин-індукованих, пілокарпін-індукованих генералізованих судом, а також гострих генералізованих судом, індукованих каїновою кислотою. Встановлено, що досліджувані комплексні сполуки впливали на вираженість та інтенсивність всіх гострих генералізованих судом, крім тих, що викликані пілокарпіном.

П'ятий розділ дисертаційного дослідження Матюшкіної М.В. присвячений вивченню антибактеріальної та противірусної активності нових синтезованих комплексних сполук у зв'язку з тим, що порушення балансу біометалів є одним з факторів, що ускладнюють інфекційний процес. Відомі з літературних джерел дані, а також виявлена автором нейротропна дія нових синтезованих комплексних сполук сприяло проведенню Матюшкіною М.В. вивчення їх антибактеріальної дії – на різні штами стафілококу та противірусної активності (на різних штаммах грипу птахів та людини). Лідерами за антистафілококовою активністю були кобальтовмісні сполуки станкоцит та геркоцит, останній – (Co)біс(цитрато)германат) – не тільки

активно інгібував ріст різних за чутливістю збудників стафілококу, а і ефективно потенціював активність бензилпеніциліну.

Відомо, що металокомплекси можуть інактивувати віруси, діючи на їх активні центри на поверхні, або можуть проникати через клітинну мембрану, або руйнувати вірус позаклітинно. Тому дисертант дослідив противірусну активність нових синтезованих комплексних сполук і встановив, що кобальтвмісні сполуки мали протигрипозні властивості відносно вірусу грипу людини штамів А/Гонконг/1/68 (H3N2) та А/PR/8/34 (H1N1), а також птахів H5N3. Наявність Германію у складі сполуки приводила до збільшення противірусної активності порівняно з станувмісною. Геркоцит (654 мкг/мл) інгібував репродукцію штаму вірусу грипу А/PR/8/34 (H1N1) на рівні референс-препарату, тоді як станкоцит дозою 1750 мкг/мл впливав на репродукцію вірусу менше, ніж озельтамівір. Противірусна активність станкоциту відносно вірусу грипу птахів H5N3 була більш виразною (368 мкг/мл), ніж геркоциту (654 мкг/мл) і референс-препарату (410 мкг/мл). Магнійвмісні сполуки не виявили значної противірусної активності відносно вірусів грипу людини штамів А/Гонконг/1/68 (H3N2) та А/PR/8/34 (H1N1).

Матеріали розділу **аналіз та узагальнення результатів** представлені Матюшкіною М.В. на професійному рівні. Дисертант глибоко аналізує та узагальнює отримані результати дослідження, підсумовує їх, обґрунтовує виявлені фармакологічні властивості чотирьох нових синтезованих різнометальних координаційних сполук (Mg, Co)біс(цитрато) германатів (станатів) з робочими назвами гермацит, геркоцит, станмацит, станкоцит. Автор логічно, чітко, послідовно викладає матеріал, грамотно його підсумовує та порівнює з даними літератури.

Всі наукові положення дисертаційної роботи мають високий рівень достовірності, базуються на адекватних методах дослідження, достатній кількості моделей, статистичній обробці отриманих результатів, які наведені в таблицях і рисунках. Загальні висновки роботи чітко викладені, науково обґрунтовані та повністю відповідають поставленій меті та завданням

дослідження. На основі викладених результатів та їх аналізу сформульовано наукову новизну роботи та її практичне значення.

Наукова новизна результатів, отриманих в дисертації, що рецензується полягає у встановленні:

1. токсикологічного профілю чотирьох сполук (Mg, Co) біс(цитрато) германатів (станатів) в гострому, підгострому та субхронічному введеннях та доведенні їх нешкідливості для тварин і людини;

2. дозозалежної депримууючої нейротропної дії нових комплексних сполук; лідером виявлено (Co)біс(цитрато)германат (геркоцит) за седативно-анксіолітичними, антиконфліктними і ноотропними властивостями та за невиразним міорелаксантичним ефектом і за відсутністю снодійного ефекту;

3. особливостей впливу дослідних комплексних сполук з робочими назвами гермацит, геркоцит, станмацит, станкоцит на гостру генералізовану судомну активність тварин при використанні різних конвульсантів, в результаті чого дисертантом встановлено протисудомні ефекти і механізми дії нових дослідних сполук;

4. діапазону доз гермациту, геркоциту, станмациту, станкоциту – $1/80 - 1/135 LD_{50}$;

5. *in vitro* антистафілококової активності кобальтовмісних сполук; виявленні лідера: геркоцит, який став лідером і за протівірусною дією.

Таким чином, було науково обґрунтовано фармакологічну активність нових координаційних сполук металів з лимонною кислотою.

Теоретичне і практичне значення результатів дослідження

Дисертаційна робота Матюшкіної М.В. має теоретичне і практичне значення. В роботі теоретично і експериментально доведено спрямованість фармакодинамічних характеристик (нейротропна, протівірусна, антибактеріальна дії) чотирьох нових координаційних сполук (Mg, Co) біс(цитрато) германатів (станатів), з них обрано лідера сполук (Co) біс(цитрато) германат – з робочою назвою геркоцит, як за антигрипозними і антистафілококовими, так і за нейротропними властивостями.

Практичне значення і наукова новизна дисертаційної роботи підтверджена 2 патентами України на корисну модель: № 93994 від 27.10.2014 р. «Кобальт біс(цитрато)германат – протигрипозний засіб»; № 95565 від 25.12.2014 р. «Координаційна сполука кобальт біс(цитрато)станат з протигрипозною дією» та 1 патентом на винахід № 113069 від 12.12.2016 р. «Координаційна сполука кобальт біс(цитрато)станат з протигрипозною дією».

Результати роботи впроваджено в науково-дослідну роботу кафедр фармакологічного, хімічного, мікробіологічного профілю ВНМЗ України.

Повнота викладення наукових і прикладних результатів дисертації в опублікованих роботах

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 29 наукових робіт: 11 статей, 6 в періодичних журналах рекомендованих МОН України, 4 – у зарубіжних наукометричних виданнях, 3 патенти (2 патенти України на корисну модель та 1 патент України на винахід), 15 тез науково-практичних форумів у вітчизняних і міжнародних виданнях, апробація яких відбулася на конференціях різного рівня.

Ідентичність змісту автореферату й основних положень дисертації

Тексти дисертації та автореферату написані українською мовою з дотриманням норм наукового стилю. Оформлення автореферату та дисертації відповідає основним положенням наказу МОН України № 40 від 12.01.17 р. Автореферат цілком відповідає тексту дисертації.

Зауваження, що стосуються оформлення і змісту дисертації та автореферату

Поряд з позитивними характеристиками роботи необхідно відмітити деякі зауваження та пропозиції:

1. У роботі зустрічаються деякі стилістичні та технічні помилки.
2. Доцільним було б наприкінці кожного розділу в дисертації навести стислі висновки.
3. В авторефераті доцільно було б надати схему дослідження.

Проте вказані зауваження та пропозиції не мають принципового характеру, не зменшують науково-практичного значення роботи та не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи Матюшкіної М.В.

Але ж, у рамках наукової дискусії хотілось б почути думку дисертанта на таке питання:

1. Чи проводили Ви комп'ютерне прогнозування фармакологічної активності цілеспрямовано синтезованих нових сполук?

2. Як Ви вважаєте, виявлений спектр фармакологічної активності комплексних сполук, до складу яких входять 2 біометали та лимонна кислота, обумовлений особливостями біологічної дії окремо складовими, чи їх сумісним ефектом?

3. Обґрунтуйте відсутність препаратів порівняння при вивченні нейротропної дії гермациту, станмациту, геркоциту та станкоциту при визначенні їх впливу на агресивно-захисну та конфліктну поведінку, при вивченні протисудомної дії та ін.

4. Чому в авторефераті відсутні ілюстрації (фото) морфологічних досліджень?

Відповідність дисертації обраній спеціальності, профілю спеціалізованої вченої ради та вимогам МОН України

Дисертаційна робота Матюшкіної Марини Володимирівни «Фармакологічна активність нових координаційних сполук металів з лимонною кислотою», є завершеною науково-дослідною роботою і містить нові науково обґрунтовані результати, що робить суттєвий внесок у вирішення науково-практичної задачі з фармакології, що полягає в експериментальному обґрунтуванні перспективності комплексних сполук Стануму та Германію для розробки нового сучасного вітчизняного малотоксичного лікарського засобу з нейротропними, антибактеріальними і протівірусними властивостями.

За актуальністю, науковою новизною, практичним значенням, а також обсягом досліджень, методичним рівнем робота Матюшкіної Марини

Володимирівни «Фармакологічна активність нових координаційних сполук металів з лимонною кислотою», повністю відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами згідно з Постановою КМ №656 від 19.08.2015 р.), а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Офіційний опонент:

завідувач кафедри медичної
та біоорганічної хімії
Харківського національного медичного
університету МОЗ України,
доктор фармацевтичних наук, професор



Г.О. Сирова

Г.О. Сирова