

ВІДЗИВ

офиційного опонента доктора медичних наук, професора, заслуженого діяча науки і техніки України, головного наукового співробітника відділу медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»
Лук'янчука Віктора Дмитровича на дисертаційну роботу *Луценка Руслана Володимировича* на тему «**ФАРМАКОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ НОВИХ ПОХІДНИХ 2-ОКСОІНДОЛІН-3-ГЛЮКСИЛОВОЇ КИСЛОТИ ЯК ПЕРСПЕКТИВНИХ НЕЙРОТРОПНИХ ЗАСОБІВ**», представленої до спеціалізованої вченої ради Д 64. 605.03 при Національному фармацевтичному університеті на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальностями 14.03.05 – фармакологія, 22 – охорона здоров'я

Актуальність обраної теми. Невпинне зростання кількості психоневрологічних захворювань як в Україні так і в усіх розвинутих державах світу відбувається на якості життя населення. В останні роки має місце маніфестація саме психосоматичних розладів, що потребує цілеспрямованих підходів до їх комплексного лікування та зокрема фармакотерапії. Наразі в арсеналі лікарів є велика кількість психотропних препаратів, однак, вони не є такими, що в повному обсязі відповідають сучасним вимогам до лікарських засобів такого типу дії. Тому пошук і розробка нових лікарських засобів, які поєднували б в собі високу психотропну активність та здатність коригувати структурно-функціональний стан життєво важливих органів є актуальною проблемою сучасної фармакологічної науки.

Предметом дослідження автором обрані аміди та естери 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти, які є представниками циклічних азотовмісних гетеросистем, що відрізняються безпечною та характеризуються багатовекторністю фармакодинамічних ефектів.

Таким чином, доцільність пошуку серед похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти як потенційних психотропних засобів з органопротекторними властивостями варто вважати теоретично обґрунтованою.

З огляду на вищевикладене абсолютно зрозуміло, тема дисертаційного дослідження Луценка Р.В. актуальною та такою що потребує нагального вирішення.

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

Дисертаційна робота є фрагментом комплексних науково-дослідних робіт кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією Української медичної стоматологічної академії (м. Полтава) «Пошук засобів із числа похідних 2-оксоіндолу, 3-оксипіридину та інших біологічно активних речовин для фармакотерапії адаптивних процесів при порушенні гомеостазу різної етіології» (№ державної реєстрації 0111U004879) (2011 – 2016 роки) і «Фармакологічне дослідження біологічної активності речовин та лікарських засобів для корекції порушень гомеостазу різної етіології» (№ державної реєстрації 0117U004681) (2017 – 2019 роки). Автор був безпосереднім виконавцем НДР.

Ступінь обґрунтування наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність і новизна, повнота викладення в опублікованих працях. Спектр методичних підходів, які автор використав в роботі (фармакологічні, токсикологічні, імуноферментні, біохімічні, гістологічні, статистичні методи та прийоми системного аналізу) є цілком достатнім. Дослідження виконані на сучасному обладнанні із залученням необхідної кількості (1572) лабораторних тварин. Отримані результати підлягали адекватній статистичній обробці, що дозволило автору робити цілком обґрунтовані висновки.

Дисертаційне дослідження є самостійною науковою працею, про що свідчить особистий внесок автора в її виконанні.

За результатами дослідження автором опубліковано 23 статті в наукових фахових виданнях, з яких 7 статей у міжнародних виданнях, 4 цитуються наукометричною базою SCOPUS, 6 є моностаттями. Отримано 3 патенти України на винахід, 16 тез доповідей, видано 2 інформаційні листи, 3 нововведення та методичні рекомендації.

Наукова новизна отриманих результатів. Робота характеризується беззаперечною новизною. Автором проведено комплексне багаторівневе дослідження фармакологічної активності та токсичності потенційного психотропного засобу 2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-окси-1,2-дигідроіндол-3-іліден)-ацетаміду під лабораторним шифром 18. Обґрунтована доцільність його застосування як засобу для лікування психо-емоційних станів, а також визначено нові фармакодинамічні ефекти в т. ч. механізми дії. Так, у низці психофармакологічних тестів вперше доведена анксиолітична дія сполуки, що вивчається. У серії токсикометричних досліджень визначений ступінь токсичності сполуки 18 при різних шляхах потрапляння в організм.

Вперше з'ясовано ряд фармакодинамічних ефектів сполуки 18 у порівнянні з референтним препаратом діазепам, зокрема встановлена холіноблокуюча активність, здатність активувати ГАМК-ергічну нейротрансмісію. Крім того, показано здатність сполуки 18 коригувати харчову поведінку щурів, а також реалізувати антидепресивну активність.

Отримано нові дані про те, що сполука 18 чинить актопротекторну дію за різних температурних умов, а також кардіопротекторний і гепатопротекторний ефекти на відповідних експериментальних моделях.

Практичне значення одержаних результатів полягає в тому, що вони експериментально обґрунтують перспективність подального вивчення та

розробки похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти як основи створення нових психотропних засобів з органопротекторними властивостями. Переваги такого типу ліків є загальновідомими, оскільки їх раціональне застосування дозволяє уникнути поліпрагмазії особливо у випадку наявності у хворого поєднаних патологій.

Практичне значення результатів дисертаційної роботи підтверджена інформаційним и листами про нововведення в системі охорони здоров'я України, а також отримані дані, які покладені в основу двох галузевих нововведень, що включені до «Переліку наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я. Автором розроблено та впроваджено в практику методичні рекомендації «Експериментальне вивчення нових антидепресивних засобів» (Київ, 2014). Крім того, результати дисертаційної роботи впроваджено в науково-педагогічний процес шести профільних кафедр медичних ВНЗ. На практичну значимість досліджень вказують 3 патенти України на винахід.

Обсяг та структура дисертації. Оформлення та структура дисертації відповідають чинним вимогам до докторських дисертацій. Робота складається із вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 6 розділів власних досліджень, розділу «Аналіз та узагальнення результатів», висновків, списку використаних джерел літератури, в якому наведено посилання на 595 джерел (168 кирилицею, 428 латиницею) та 3 додатків. Дисертація проілюстрована 51 таблицею та 47 рисунками. Загальний обсяг дисертації складає 442 сторінки комп'ютерного друку та містить анотації українською та англійською мовами, список друкованих праць.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Достовірність результатів дисертації Р. В. Луценко обґрунтовано вибором сукупності інформативних

критеріїв і сучасних методів, достатньою кількістю спостережень, дотриманням стандартизованих умов експерименту, орієнтацією на чинні методичні рекомендації. Все це дозволило дисертанту об'єктивізувати наукові положення та висновки дослідження.

Таким чином, всі наукові положення та висновки дисертації є обґрунтованими та достовірними. Робота відповідає шифру 14. 03. 05, 26 – фармакологія та охорона здоров'я.

Оцінка змісту роботи.

Вступ містить всі необхідні складові. В ньому автор аргументовано і послідовно висвітлює стан проблеми, формулює мету і завдання дослідження, обґруntовує необхідність його проведення. Цілком зрозуміло та лаконічно окреслені предмет та об'єкт дослідження, визначена наукова новизна та практична значимість, охарактеризований зв'язок роботи з науковими планами, а також зазначений особистий внесок здобувача, форми оприлюднення результатів дослідження, кількість публікацій, а також обсяг і структуру дисертації.

Огляд літератури «Нейробіологія тривожних розладів, їх корекція та місце в ній похідних індолу» містить 4 підрозділи, в першому із яких викладена роль основних нейромедіаторних систем у процесах анксіогенезу, а також охарактеризовано лікарські препарати, що коригують генералізовані тривожні розлади. Другий підрозділ присвячено перспективам створення нових анксіолітичних засобів та представлена фармакологічна оцінка як потенційних, так і існуючих анксіолітиків та седативних засобів. У третьому підрозділі представлені фармакологічні ефекти похідних індолу як природного (алкалоїди), так і синтетичного походження. Спектр відомих фармакологічних ефектів похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти окреслено у четвертому підрозділі, де автор концентрує увагу читача на фармакодинамічних ефектах похідних цього класу сполук. В цілому огляд

літератури написаний гарною мовою, містить достатню кількість посилань на вітчизняні та зарубіжні літературні джерела, логічно та аргументовано обґрунтовує доцільність подальших досліджень.

У розділі 2 «Матеріали та методи дослідження» дана характеристика тварин а також методичного апарату дослідження, який характеризується комплексним підходом. У цьому розділі досить грунтовно описані методики, що використовувалися здобувачем. Всі методики відповідають сучасному рівню, достатньо інформативні, ґрунтуються на принципах наукової доказовості та достовірності. Для статистичної обробки результатів досліджень автором використано низку адекватних параметричних та непараметричних критеріїв. Всі використані методи дослідження є сучасними, загальноприйнятими, адекватними меті та завданням.

Розділ 3 «Скринінг анксиолітичної дії естерів і амідов 2-оксоіндолін-3-глюксилової кислоти» складається із 6 підрозділів. У першому підрозділі «Прогнозування біологічної активності за допомогою програми PASS» представлені результати комп'ютерного прогнозування фармакологічної активності та токсичності 24 похідних 2-оксоіндолін-3-глюксилової кислоти, 17 із яких визначені як потенційні засоби з анксиолітичною активністю. У другому підрозділі наведені відомості про дослідження емоційно- поведінкових реакцій у тесті «відкрите поле». У якості препарата порівняння використано діазepam. На цьому етапі скринінгу автором відібрано 12 найбільш перспективних сполук у якості майбутніх анксиолітичних засобів. Третій підрозділ присвячено вивченю змін поведінки в тесті «піднесений хрестоподібний в лабіrint», де встановлена протитривожна та антифобічна дія сполуки лідера практично на рівні референтного препарату діазepamу. У підрозділі 3.4 «Вплив на рівень тривожності в тесті «чорно-біла камера» висвітлені дані, згідно яких додатково підтверджена емоційно-поведінкова активність сполуки 18. У

п'ятому підрозділі проведено аналіз рівня тривожності при моделюванні «поведінки, що карається», варіант Vogel, згідно якого введення тваринам сполуки 18 збільшує швидкість адаптації до нових умов, попереджує розвиток відчуття тривоги, страху і запобігає пригніченню психоемоційної сфери щурів на тлі модельної патології. Завершальний підрозділ 3.6 присвячено визначеню токсичності та середньоефективної дози сполуки-лідера що дозволило автору віднести сполуку 18 до відносно нешкідливих речовин (VI клас токсичності), а середньоефективна доза за анксіолітичною активністю дорівнює $11,90 \pm 2,85$ мг/кг за умов внутрішньочеревного введення.

Розділ 4 «Поглиблене дослідження анксіолітичної дії сполуки-лідера з числа похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти» складається з чотирьох підрозділів, в яких автором викладені результати, що дозволили прийти до наступних проміжних висновків. Так, сполука 18, на відміну від референтного препарату діазепаму, не виявила ознак розвитку толерантності, що доведено на низці тестів. При цьому встановлені виразні сенсорні антистресорні властивості які є компонентом анксіолітичної дії. З'ясовано, що на тлі застосування сполуки 18 за умов моделювання гострого стресу відбувається зменшення дисбалансу в обміні амінокислот, пуринів, білірубіну. Крім того, антистресова ефективність вивченої сполуки доведена у тесті «піднесений хрестоподібний лабіrint». Встановлено такий важливий з практичної точки зору фармакодинамічний ефект сполуки 18 як здатність активізувати депримуючу дію тіопенталу-натрію шляхом зменшення часу настання та збільшення тривалості наркозу.

Розділ 5 «Фармакологічний аналіз взаємодії сполуки-лідера з числа похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти з основними медіаторними системами головного мозку» включає 5 підрозділів. У першому – досліджено вплив сполуки 18 на адренергічну нейромедіаторну

систему. Підрозділ 5.2 присвячено дослідженняю взаємодії сполуки -лідера з дофамінергічною нейромедіаторною системою. У третьому підрозділі викладено дані щодо впливу на серотонінергічну нейромедіаторну систему на фоні ефектів 5- окситриптофану, а у четвертому – щодо впливу сполуки 18 на холінергічну нейромедіаторну систему. П'ятий підрозділ містить відомості про дослідження взаємодії сполуки 18 з ГАМК-ергічною системою. Отримані у даному розділі результати дозволили дисертанту зробити заключення про те, що сполука-лідер реалізує адренотропну активність при відсутності дофаміноміметичної дії. Крім того, не виключено, що сполука 18 здатна чинити антисеротонінову дію, а також володіє центральним холіноблокуючим ефектом та здатністю посилювати ГАМК-ергічну трансмісію.

Розділ 6 «Вивчення ефективності та механізмів дії сполуки- лідера при експериментальному неврозі» складається з п'яти підрозділів, у першому із яких наведені дані, згідно яких сполука 18 ефективно корегує розлади емоційно-поведінкових реакцій при експериментальному неврозі. Також вивчаєма сполука позитивно впливає на емоційно- поведінкові реакції тварин у тесті «чорно-біла камера». Підрозділ 6.2 присвячено вивченню змін харчової поведінки на тлі застосування сполуки 18. У третьому та четвертому підрозділах висвітлені дані щодо впливу сполуки- лідера, відповідно, на обмін моноамінів та ГАМК- ергічну систему. Заключний, п'ятий підрозділ містить результати дослідження вивчаємої сполуки на структуру кореляцій при експериментальному неврозі. Аналіз отриманих та представлених у даному розділі результатів дослідження дозволили автору заключити, що сполука 18 за умов її застосування при неврозі чинить лікувально-профілактичну дію, що може бути результатом зменшення рівня адреналіну та нормалізації вмісту інших моноамінів у крові щурів. При цьому показано, що вивчаємий потенційний лікарський засіб чинить свою антиневротичну дію шляхом участі у ГАМК-ергічних механізмах, що підтверджувалося

зниженням активності ГАМК-Т у тканинах головного мозку. Проведений дисертантом кореляційний аналіз продемонстрував, що сполука 18 запобігає змінам факторного навантаження на комплекси ознак розвитку невротичного стану.

Розділ 7 «Уточнення фармакологічного профілю центральної нейротропної активності нових похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти», до складу якого входять два підрозділи, що присвячені скринінгу антидепресивної активності та експериментальному аналізу похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти на наявність актопротекторних властивостей. Викладені результати дослідження дозволили автору встановити, що за окремими показниками вивчення антидепресивної дії сполука-лідер є більш активною, аніж референтний препарат іміпрамін. Доведена також наявність у сполуки 18 та інших похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти актопротекторних властивостей за тестом плавання щурів, що співставно з етилтіобензімідазолом, який застосовувався у якості референтного препарату.

Розділ 8 «Дослідження органопротекторних властивостей сполуки-лідера», що включає 3 підрозділи, містить результати дослідження впливу сполуки 18 на перебіг адреналінового міокардиту (підрозділ 1), гострого тетрахлорметанового гепатиту (підрозділ 2), гострої ниркової недостатності (підрозділ 3). Встановлено, що сполука 18 за даними електрокардіографічних показників та біохімічних маркерів функціонального стану серцевого м'яза, а також морфологічно – за мінімізацією проявів ішемії та дистрофії міокарда тварин, володіє великою виразною кардіопротекторною дією. Доведена гепатопротекторна активність сполуки-лідера, що реалізується ефективною корекцією кон'югаційно-екскреторної функції печінки, за рахунок зменшення в сироватці крові вмісту загального білірубіну та його фракцій. Разом з тим, варто зазначити, що застосування сполуки 18 не призводить до покращення

морфологічного стану нирок щурів як в системі каналців нефронів так і в ниркових клубочках.

Аналіз та узагальнення результатів.

У цьому розділі автор підводить підсумок представлених в роботі результатів дослідження, докладно і доказово пояснюючи найбільш важливі факти і положення із залученням достатньої кількості літературних джерел. Слід підкреслити комплексний підхід, який було обрано автором для вирішення проблеми.

Висновки логічно випливають з матеріалів, наведених у дисертації, відповідають поставленим завданням, викладені в логічній послідовності, є достатньо обґрунтованими, містять вагомі елементи новизни та мають науково-практичне значення. Проте, висновки перевантажені умовними скороченнями та цифровими даними і вимагають загального скорочення.

Автореферат відповідає змісту дисертації.

Недоліки дисертації і автореферату щодо їх змісту і оформлення.

Дисертацію та автореферат Р.В. Луценка написано українською мовою із дотриманням наукового стилю. Їх технічне оформлення в цілому відповідає вимогам МОН України щодо викладення, об'єму, структури, ілюстрації, посилань на джерела літератури. Проте виникли зауваження та запитання.

Зауваження.

Серед загальних зауважень необхідно вказати на поодинокі стилістичні та орфографічні огріхи. Наведені зауваження не є принциповими і не зменшують наукової цінності роботи.

1. Відсутнє будь-яке обґрунтування вибору у якості препарата порівняння нейротропного засобу Армадін на моделі токсичного гепатиту,

тим паче, що посилання на джерело 48, (дисертація), не є коректним так як воно присвячено вивченю проблем нефротоксичності?

2. В роботі використано різні види контролю: «ін tactний контроль», «контроль на патологію», «контроль на ін'екцію». Однак у розділі 2 відсутня характеристика (методика відтворювання) контролю на ін'екцію та контролльної патології.

3. Не вказано, яким чином визначались параметри ЛД₁₆ та ЛД₈₄, бо з рис. 3.8, на який автор робить посилання цього не видно. Також відсутня аналітична оцінка «сумарного показника безпечності – S» сполуки 18 (стор. 141).

4. Не є коректною назва розділу 7, оскільки, по-перше, фармакологічний профіль включає фармакодинаміку та -кінетику, а по-друге, не може бути фармакологічний профіль якоїсь фармакологічної активності.

5. В роботі відсутнє обґрунтування доцільності вивчення фармакодинаміки сполуки- лідера на моделі ангедонії та не зазначено про ці дослідження в задачах дослідження.

Виявленні недоліки не є принциповими, носять здебільшого рекомендаційний характер і не зменшують пріоритетності, наукової новизни, теоретичної і практичної цінності роботи.

У порядку дискусії хотілося б почути відповідь здобувача на такі питання:

1. Який, на думку дисертанта, фрагмент молекули сполуки 18 як потенційного анксіолітика може слугувати фармахофором.

2. Чим можна пояснити той факт, що в сполуці 18 поєднуються фармакодинамічні ефекти різного спрямування щодо впливу на психоемоційний стан, а саме: психостимулююча дія у випадку реалізації анксіолітичної активності та водночас потенціювання наркозного ефекту тіопенталу-натрію, коли сполука чинить антидепресивну, або актопротекторну дію, яка, зокрема, відрізняється виразними

енергостимулюючими ефектами, котрі реалізуються в активації фізичної та розумової працездатності.

3. Оскільки одним із ключових питань доклінічної лікарської токсикології є з'ясування питання про можливі кумулятивні властивості майбутнього лікарського засобу, то цікава думка дисертанта з цього приводу щодо сполуки 18.

Рекомендації, щодо використання результатів дисертації в практиці. Отримані результати дисертаційного дослідження можуть бути підґрунтям для подальших доклінічних, а потім і клінічних досліджень нового нейро- психотропного засобу, що є похідним 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти. Перспективним у цьому напрямку є можливість застосування потенційного лікарського засобу, що вивчається за умов психічних розладів на тлі соматичних порушень.

Відповідність дисертації встановленим вимогам, які пред'являються до наукового ступеня доктора медичних наук. Дисертаційна робота Луценка Руслана Володимировича на тему «Фармакологічні властивості нових похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти як перспективних нейротропних засобів», що подана на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія, 22 – охорона здоров'я є самостійним, закінченим науковим дослідженням, в якому запропоновано нове вирішення актуальної наукової проблеми, котра полягає у пошуку, дослідженні та створенні на основі похідних 2-оксоіндоліну нових потенційних нейротропних засобів з органопротекторною дією.

За актуальністю, новизною, теоретичною і практичною цінністю отриманих результатів дослідження, рівнем опублікування та оприлюднення результатів дисертація Луценка Руслана Володимировича на тему «Фармакологічні властивості нових похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової

кислоти як перспективних нейротропних засобів» відповідає п. 10 щодо докторських дисертацій «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету міністрів України № 567 від 24. 07. 2013 року (з подальшими змінами), а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія, 22 – охорона здоров'я.

Офіційний опонент -
головний науковий співробітник
відділу медичної хімії ДУ
«Інститут фармакології та токсикології НАМН України»,
заслужений діяч науки і техніки України
доктор медичних наук, професор

Лук'янчук В.Д.

