ВІДЗИВ
офіційного опонента на дисертацію Луценка Руслана Володимировича
«ФАРМАКОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ НОВИХ ПОХІДНИХ 2-ОКСОІНДОЛІН-3-ГЛІОКСИЛОВОЇ КИСЛОТИ ЯК ПЕРСПЕКТИВНИХ НЕЙРОТРОПНИХ ЗАСОБІВ»
на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук
за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія
22 – Охорона здоров'я

Актуальність. Пошук та впровадження нейро- та психотропних препаратів належить до першорядних завдань сучасної фармакології, оскільки розлади ЦНС зустрічаються дедалі частіше, нерідко мають складну синдромальну структуру, що потребує диференціойованого впливу. Крім того, більшість наявних психотропних препаратів має велику кількість побічних ефектів. Отже, пошук перспективних психотропнних засобів з оригінальним механізмом дії та спектром фармакологічної активності є важливим завданням сучасної фармації та медицини. Для цілеспрямованого пошуку таких засобів взято 23 похідні 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти. Гліоксилати здавна привертали увагу перш за все як антигіпоксанти. Зокрема, піридоксинілгліоксілат (відомий препарат «Гліосіз») чинить виразну органотропну антигіпоксантну дію в міокарді та застосовується як антиангінальний препарат, що знижує потребу серця в кисні. Попередні дослідження різних авторів свідчать, що окремі хімічно споріднені нові, оригінальні похідні 2-оксоіндолініден-3-гліоксилової кислоти та спіроциклічні похідні оксиндолу чинять досить виразну антигіпоксантну, ноотропну, антидепресивну, анксіолітичну та церебропротекторну дію, що доводить (Гаман Д.В., 2012; Цубанова Н.А., 2013; Шатілов О.В., 2014; Сидоренко А.Г., 2016; Букатару Ю.С., 2018). Це обґрунтовує доцільність поглибленого дослідження впливу зазначених сполук на ЦНС, визначення найперспективніших речовин, які можна розглядати як кандидати на активні фармацевтичні інгредієнти сучасних нейротропних препаратів.

Основний зміст дисертації та його оцінка. Дисертацію побудовано відповідно до вимог Наказу №40 МОН України від 12.01.2017. Вона

складається з анотації, списку друкованих праць, переліку умовних позначень, змісту, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 6 розділів власних досліджень, номери яких – 3, 4, 5, 6, 7 і 8, розділу «Аналіз і узагальнення результатів», висновків та списку використаних джерел, що включає 595 найменувань (з них 168 кирилицею 427 – латиницею), додатків. Загальний обсяг дисертації 442 сторінки, з них 294 сторінки – власне основний текст. У роботі 51 таблиця і 47 рисунків.

Анотація українською та англійською мовами (20 сторінок) містить стисле викладення основних положень дисертації та перелік публікацій автора за її темою.

У вступі дисертант обґрунтовує актуальність теми, формулює мету й завдання дослідження, об’єкт та предмет дослідження, викладає наукову новизну та практичне значення, наводить особистий внесок.

Мета дисертаційної роботи – експериментально обґрунтувати доцільність пошуку серед перспективних похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти сполук з нейротропною та органопротекторною дією, з’ясувати фармакологічні властивості та механізми дії сполуки-лідера

11 завдань, які логічно підпорядковуються цій меті, сприяють розкриттю теми роботи.

В **огляді літератури** (51 сторінка) дисертант розглядає роль основних нейромедіаторних систем в анксіогенезі, перспективи створення нових анксіолітичних засобів, фармакологічні властивості численних похідних індолу, які успішно використовуються в різних сферах медицини, відомі фармакологічні властивості похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти. Останній підрозділ містить досить повний перелік відомостей щодо нейро- та психотропних властивостей похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти, які виявлено в попередніх дослідженнях. Огляд охоплює значну кількість сучасних джерел, професійно, в аналітичному ключі. Варто лише зауважити, що доцільно приділити увагу ролі нейромедіаторних систем не лише в анксіогенезі, оскільки досліджується не лише анксіолітична активність. Крім того, автор,

посилаючись на джерело 553 (2006 р.), наводить неактуальні дані щодо використання відомого алкалоїду індольної будови резерпіну в лікуванні психозів і артеріальної гіпертензії, оскільки цей жорстко діючий алкалоїд завдяки невибірковій дії та значної кількості побічних ефектів є морально застарілим і не входить до сучасних протоколів лікування.

Матеріали та методи дослідження (розділ 2) викладено на 20 с. Автор дослідив 24 сполуки – похідні 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти. Проте потребує уточнення номенклатура цих сполук у зв'язку із сучасною термінологією. Крім того, у цьому розділі варто упорядкувати послідовність викладення окремих моделей та методів, яка має відповідати структурному плану роботи, її змісту, послідовності завдань. Наприклад, моделі патології серця, печінки, нирок, які використано на IV етапі дослідження, викладається перед методами дослідження ЦНС.

Матеріали та методи дослідження є сучасними та в цілому відповідають меті та завданням роботи, хоча деякі методичні підходи потребують уточнення. Наприклад, досліджували вплив сполуки-лідера на вміст адреналіну, норадреналіну, дофаміну, серотоніну і ГАМК у крові. Виникає питання, з якою метою в крові, адже дисертацію присвячено дослідженню психотропних ефектів і доцільно визначати їх у мозку, а в крові походження цих сполук може бути інше. Постає також питання щодо обґрунтування визначення пуринового та пігментного обміну на моделі стресу, вибору референт-препаратів. Потребує уточнення методика проведення дискримінантного аналізу.

У розділах 3-8 наведено результати власних досліджень.

Розділ 3 (37 с.) присвячено скринінгу похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти на анксіолітичну активність. До речі, правильніше було б назвати цей розділ саме так, а не «Скринінг анксіолітичної дії простих ефірів і амідів 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти», оскільки скринується не дія, а саме сполуки. Розділ починається з прогнозування біологічної активності досліджуваних сполук за допомогою програми PASS, як зазначено в назві підрозділу 3.1, проте в таблиці 3.1. фігурує також програма GUSAR, за

допомоги якої автор прогнозує гостру токсичність, але про це в назві підрозділу не йдеться. Доцільно також зіставити результати прогнозу з результатами експериментального визначення відповідних показників. Дисертант певною мірою повторив дослідження О.В. Шатілова щодо анксіолітичної дії сполуки 18, яка стала лідером (сполуку досліджено в аналогічній дозі, тим самим методом – у тесті піднесеного хрестоподібного лабіринту), причому на відміну від О.В. Шатілова виявив ці властивості. Це може означати нестійкість анксіолітичних ефектів досліджуваної сполуки. Підтвердження анксіолітичних властивостей сполуки 18 у роботі Р.В. Луценка в інших адекватних тестах (чорно-біла камера, конфліктна поведінка) може свідчити на користь наявності таких властивостей у досліджуваної сполуки. Визначено також ED_{50} анксіолітичної дії сполуки-лідера в тесті «поведінка, що карається» (вона склала 11,9 мг/кг).

Для характеристики анксіолітичного ефекту дисертант використав лінійний дискримінантний аналіз. Проте з матеріалів розділу, зокрема з табл.3.5 (с.137), незрозуміло походження значень констант та дискримінантної функції.

Розділ 4 (23 с.) присвячено поглибленому дослідженню сполуки-лідера як анксіолітика – за тривалого введення, на моделі гострого стресу, вплив на м’язовий тонус. Досліджено також метаболічні ефекти – вплив на ліпопероксидацію, на обмін пуринів і білірубіну. Розділ завершується оцінкою взаємодії сполуки-лідера з наркозним препаратом (тіопентал-натрій). Доцільно обґрунтувати сенс оцінки впливу на показники обміну пуринів і білірубіну в рамках дослідження анксіолітичної дії.

Розділ 5 (28 с.) містить результати вивчення взаємодії сполуки-лідера з основними нейромедіаторними системами головного мозку. Методичний підхід ґрунтується на використанні фармакологічних аналізаторів з добре відомими нейромедіаторними механізмами (адренергічним – клонідин, антидофамінергічним – галоперидол, дофамінергічним – апоморфін, L-3,4-діоксифенілаланін, серотонінергічним – 5-окситриптофан, нікотинергічним – ареколін, нікотин). Це виправданий та, безумовно, коректний підхід. Але для

верифікації блокади пресинаптичних α_2-адренорецепторів, накопичення дофаміну, блокування пресинаптичних 5-HT_{2A}-рецепторів і зворотного захоплення 5-НТ неможна вважати його однозначно достатніми, тому що ефекти тестуючих речовин вивчено лише феноменологічно, без визначення ліганд-рецепторних взаємодій.

У **розділі 6** (33 с.) дисертант концентрує увагу на з'ясуванні ефективності та механізмів дії сполуки-лідера на моделі експериментального неврозу: досліджено вплив на поведінкові реакції, харчову поведінку, вплив на показники обміну моноамінів (як вже зазначено, на жаль, лише в крові, але не в структурах головного мозку). Також визначено вплив на показники обміну ГАМК (на відміну від моноамінів і в крові, і в головному мозку) за низкою інформативних показників – вмістом глутамату (прекурсору ГАМК), активністю глутаматдекарбоксилази та ГАМК-трансамінази. Останній блок досліджень справляє особливо гарне враження, оскільки різнобічно охоплює відповідну ланку нейрохімічного механізму дії досліджуваної сполуки.

Розділ 7 (його викладено на 20 с.) присвячений фармакологічному профілю центральної нейротропної дії нових похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти. Він логічно завершує оцінку нейротропних властивостей досліджуваних сполук. У розділі 7 досліджено антидепресивні та актопротекторні властивості, у т.ч. в умовах імерсійних моделей гіпо- та гіпертермії. Низка сполук, у т.ч. числі лідер попереднього блоку досліджень, виявили себе як потенційні антидепресанти. Ці результати підтверджують дані О.В. Шатілова (2014) на моделі резерпінової депресії, але вони отримані на іншій моделі – у плавальному тесті Порсолта. Таким чином, обґрунтування антидепресивної дії стало більш вагомим. Заслуговує на увагу актопротекторна дія низки похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти, в т.ч. за ускладнених умов гіпо- та гіпертермії. Дисертант справедливо характеризує цю дію відповідно як фриго- та термопротекторну, хоча залишається невідомим її переважне походження – центральне або периферичне. З огляду на загальний спектр фармакологічних властивостей та метаболітотропну дію можна

припустити обидва варіанти або багатовекторність цих ефектів, що розкриває перспективи подальшого дослідження та цілеспрямованого вдосконалення сполук цього класу як фриго- та термопротекторів.

Розділ 8 (27 с.) присвячено з'ясуванню вторинної фармакодинаміки – органопротекторним властивостям сполуки-лідера на низці моделей: адреналіновий міокардит, гострий тетрахлорметановий гепатит, дві моделі гострої ниркової недостатності (правильніше називати цей стан гостре ураження нирок). Результати цього розділу переконують у кардіо- та гепатопротекторних властивостей досліджуваної сполуки на рівні, що перевищує ефект етилметилгідроксипіридину (очевидно, обраного для порівняння як політропний препарат з анксіолітичними, антигіпоксичними, антиоксидантними та органопротекторними властивостями). Нефропротекторна дія сполуці-лідеру не притаманна, але стан нирок за гострого ураження вона не погіршує. Матеріали розділу справляють гарне враження. Вони, з одного боку, значно розширюють уявлення про можливу сферу застосування сполуки-лідера, оскільки нерідко трапляється цереброкардіальний синдром, а з іншого – експериментально обґрунтовують відсутність потенційних протипоказань з боку серця, печінки, нирок.

Аналіз та узагальнення результатів дослідження (41 с.) вказує на компетентність дисертанта. Проте слід чіткіше структурувати цей розділ, приділити більшу увагу таким питанням як прогнозування токсичності, аналіз зв'язку «хімічна будова – фармакологічна дія», щоб поглибити уявлення про фармакофори. Як зауваження слід зазначити, що твердження «результати фармакологічного аналізу однозначно свідчать про агонізм сполуки 18 стосовно ГАМК$_A$-рецептора, її антагонізм стосовно центральних α_2-адренорецепторів, М- і Н-холінорецепторів» є надто категоричним, оскільки для доказу такого характеру взаємодії певної речовини з рецептором фармакологічного аналізу недостатньо, необхідний аналіз ліганд-рецепторних взаємодій.

Висновки (їх кількість становить 11) віддзеркалюють фактичні результати та відповідають завданням роботи.

Список літератури наведено за алфавітом. Він містить достатню кількість джерел, у т.ч. останніх років видання.

Оцінка повноти викладення результатів дисертації в публікаціях автора. Матеріали дисертації репрезентовані в публікаціях досить повно. Наявні 48 публікацій, з яких 23 статті у наукових фахових виданнях, 7 статей – у закордонних виданнях, 4 – у виданнях, що цитуються в наукометричній базі SCOPUS. Слід зазначити, що 6 статей опубліковано без співавторів. Доробок дисертанта складають також 3 патенти України на винахід, 16 тез доповідей, 2 інформаційні листи, 3 нововведення в сфері охорони здоров'я, методичні рекомендації ДЕЦ щодо вивчення антидепресивної активності в експерименті.

Оцінка наукової новизни та практичного значення дисертаційного дослідження. Результати мають наукову новизну та практичне значення, за якими принципово відповідають вимогам до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора наук. Експериментально обґрунтовано доцільність створення оригінального лікарського препарату – похідного 2-оксоіндолін-гліоксилової кислоти – як потенційного анксіолітика з політропними фармакологічними властивостями. Видано нововведення в системі охорони здоров'я України, патенти на винахід. Результати впроваджено у науково-педагогічний процес 6 кафедр закладів вищої освіти України.

Відповідність текстів дисертації та автореферату. Дисертація та автореферат викладені з дотриманням наукового стилю з використанням сучасної української мови. Зміст дисертації та автореферату є ідентичним, автореферат достатньо розкриває всі наукові положення дисертації.

Оформлення дисертації в цілому відповідає чинним вимогам, проте трапляються недоліки. Кольори окремих стовпчиків на деяких рисунках подібні один до одного, що ускладнює візуальне розрізнення сполук, які цими кольорами позначено (наприклад, на рис.3.1- 3.7, розділ 3).

Зауваження. Крім висловлених при аналізі розділів дисертації недоліків, слід відмітити ще низку загальних зауважень, зокрема:

1. У тексті дисертації та автореферату залишаються невиправлені мовні помилки, невдалі вислови, невиправлені технічні помилки тощо. Зокрема, трапляються слова «попереджувати», «попереждення» у значенні «запобігати», «запобігання».
2. В огляді літератури варто приділити увагу нейробіологічним механізмам не лише тривожних розладів, а й інших психічних порушень.
3. У розділі «Матеріали та методи дослідження» недостатньо впорядкована послідовність викладення окремих моделей та методів, яка має відповідати структурному плану роботи, її змісту, послідовності завдань. Потребує уточнення методика використання дискримінантного аналізу.
4. Для верифікації блокади пресинаптичних α_2-адренорецепторів, накопичення дофаміну, блокування пресинаптичних 5-HT_{2A}-рецепторів і зворотного захоплення 5-НТ використаних методичних підходів неможна вважати однозначно достатніми. Автор вивчав ефекти тестуючих речовин лише феноменологічно, без визначення ліганд-рецепторних взаємодій.
5. Біогенні аміни визначено не в головному мозку (тільки в крові), цього недостатньо для вичерпної характеристики моноамінергічних ланок механізму дії.

Ці зауваження не є принциповими, оскільки не піддають сумніву цінність наукових положень дисертації.

Виникла також низка **питань** до дисертанта, одне з яких має методичний характер, а три є дискусійними:

1. Як розраховували константи та дискримінантну функцію?
2. Як вміст адреналіну, норадреналіну, дофаміну, серотоніну, ГАМК у крові віддзеркалює зміни стану відповідних гормонів та нейротрансмітерів у крові?
3. Чому поведінку тварин у чорно-білій камері названо неконфліктною?
4. Як вміст сечовини, креатиніну та білірубіну віддзеркалює перебіг стрес-реакції?

Висновок. На підставі вищезазначеного вважаю, що дисертаційна робота Р.В. Луценка являє собою самостійну завершену кваліфікаційну працю, яка сприяє вирішенню проблеми пошуку нових високоефективних і безпечних психотропних засобів з органопротекторними властивостями. За актуальністю, методичним рівнем, обсягом досліджень, науковою новизною результатів, їх теоретичним і практичним значенням, достатністю та повнотою публікацій матеріалів дослідження, їх апробації на наукових форумах дисертація відповідає вимогам п.10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.1015 р. № 1159 від 30.12.2015), Наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 «Про затвердження вимог до оформлення дисертацій», а Луценко Руслан Володимирович заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальності 14.03.05 – фармакологія.

Офіційний опонент,
завідувач кафедри фармакології
та фармакотерапії
Національного фармацевтичного
університету,
доктор медичних наук, професор _____ **Сергій ШТРИГОЛЬ**

Підпис проф. Сергія Штриголя засвідчую
Провідний фахівець з питань
кадрової роботи відділу кадрів НФаУ _____ **Віра ДВЕРНИЦЬКА**

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Національний фармацевтичний університет
№02010936