

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Маркіної Анни Юріївни «Фармакологічне дослідження естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот як потенційних діуретичних засобів», подану до спеціалізованої вченої ради Д64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

Актуальність обраної теми.

Сечогінні засоби або діуретики сьогодні широко застосовуються у клініці внутрішніх хвороб при фармакотерапії серцево-судинних захворювань, гострих пошкодженнях нирок, набряку легень та інших нозологіях. Проте, їх застосування досить часто супроводжується порушеннями водно-електролітного балансу, кислото-лужної рівноваги, обміну речовин та іншими специфічними побічними ефектами. Разом з цим дана група препаратів є достатньо стабільною за асортиментом та практично не змінювалася за торговими позиціями за останні роки на фармацевтичному ринку України. Більшість діуретичних засобів на вітчизняному фармацевтичному ринку іноземного виробництва. Все вищенаведене обумовлює доцільність пошуку нових більш безпечних діуретичних препаратів.

Останнім часом значну увагу, як перспективні сполуки, що мають широкий діапазон фармакологічної активності (протизапальну, ноотропну, антигіпоксичну, спазмолітичну, антиоксидантну) привертають похідні оксоіндолу. Сьогодні в медичну практику впроваджено ряд похідних оксоіндолу – ропінірол, зафірлукаст та індометацин.

Вищевикладене свідчить про важливе значення, актуальність та доцільність дисертаційної роботи Маркіної Анни Юріївни, а представлені у дисертації дослідження, що полягають у експериментальному обґрунтуванні

доцільності пошуку потенційних діуретичних засобів серед ацильованих похідних 2-оксоіндоліну – естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот для створення нового вітчизняного ефективного та безпечного діуретичного засобу на основі сполуки-лідера – пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну, є перспективними.

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

Дисертація є фрагментом науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету «Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного і природного походження» (номер держреєстрації 0103U000478) та «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956), у яких автор є співвиконавцем.

Наукова новизна одержаних результатів.

У дисертаційній роботі вперше теоретично та експериментально обґрунтовано доцільність пошуку нових діуретичних засобів серед ацильованих похідних 2-оксоіндоліну – естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот та поглиблене доклінічне вивчення сполуки-лідера (під умовною назвою “індолінорен” в умовно-ефективній дозі 29,5 мг/кг) як безпечного та ефективного діуретичного засобу. Серед естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот встановлена діуретична активність, яка притаманна сполукам на рівні 44 %; 68 % та 98 %.

Автором вперше встановлена залежність «структура-активність»: діуретична активність притаманна естерам N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислоти, що містять залишки валіну та аспарагінової кислоти, підвищення якої відбувається з подовженням ланцюга естерного залишку від метилу до пропілу.

Дисертантом встановлено, що індолінорен у дозі 5 мг/кг, еквівалентній дозі фуросеміду, за значенням діуретичного ефекту (98 %) перевершує гідрохлортіазид (70 %), доза якого у п'ять разів вища – 25 мг/кг.

Дисертантом встановлена добова динаміка діуретичної активності індолінорену у дозі 29,5 мг/кг з максимумом між другою та четвертою годиною після введення.

Автором одержано додаткові дані, які поглиблюють уявлення про особливості діуретичної дії індолінорену. Уперше встановлена діуретична активність сполуки при одноразовому і багаторазовому (7 діб) введенні за умов спонтанного діурезу та за умов водного та сольового навантаження.

Встановлено можливу здатність знижувати мінералокортикоїдний контроль функції нирок, про що свідчить підвищення ($p < 0,05$) екскреції іонів натрію, калію та Na^+/K^+ коефіцієнту сечі (в 3; 2,8 та 1,1 рази за умов спонтанного діурезу при одноразовому та в 2,5; 2,1 та 1,3 рази при багаторазовому введенні). Встановлено посилення діуретичного ефекту сполуки за умов пригнічення альдостеронових рецепторів спіронолактоном та його зниження за умов блокади дофамінових рецепторів. Уперше встановлено гіпоазотемічну та урикозуричну дію сполуки: достовірне ($p < 0,05$) зниження на сьому добу вмісту креатиніну в крові щурів у 1,7 рази та підвищення ($p < 0,05$) екскреції сечової кислоти в 2,1 рази.

У дисертаційній роботі розширено уявлення про фармакодинамічні властивості сполуки. Уперше встановлено широкий спектр екстраренальних фармакологічних ефектів: антиексудативний (57,1% на другу год на моделі карагенінового набряку), антимикробний (МПК для *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* – 50 мг/мл, для *Pseudomonas aeruginosa* – 75 мг/мл, антиоксидантний (зниження рівня ТБК-АП на 83,6 % *in vitro* в системі ЖЛП), антигіпоксичний (199 % на моделі гіпоксії з гіперкапнією у щурів).

Автором підтверджено дані щодо наявності діуретичної та супутніх видів активності індолінорену на моделі гемодинамічного набряку легень, викликаному введенням адреналіну гідротартрату, про що свідчить подовження тривалості життя тварин у 1,8 рази ($p < 0,05$), зниження коефіцієнта маси легень щурів у 2,1 рази ($p < 0,05$), збільшення маси сухого залишку легеневої тканини в 1,3 рази ($p < 0,05$), зниження виразності

альвеолярного набряку та збільшення виразності нормального альвеолярного рисунку відповідно в 2 рази ($p < 0,05$).

Дисертантом підтверджена діуретична та нефропротекторна ефективність індолінорену на моделі гострого пошкодження нирок гліцеролом, що визначено за підвищенням діурезу на другу добу в 4 рази, на третю – в 12 разів ($p < 0,05$); зниженням вмісту креатиніну та сечовини в крові відповідно в 2 та 3 рази; зменшенням рівня білка сечі в 1,7 рази ($p < 0,05$); посиленням антиоксидантного захисту (підвищення рівня ВГ ($p < 0,05$) в еритроцитах у 1,6 рази) та гальмування процесів ПОЛІ (зниженням вмісту ТБК-АП у сироватці крові на 34 % ($p < 0,05$)), а також зменшенням вираженості некрозу, вакуольної дистрофії та обструкції просвіту каналців циліндрами відповідно в 1,7 рази ($p < 0,05$).

Наукова новизна досліджень підтверджена патентами України на корисну модель № 63373 від 10.10.2011 р. та винахід № 101844 від 13.05.2013 «Застосування пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну як діуретичного засобу».

Практичне значення одержаних результатів.

При виконанні дисертаційних досліджень Маркіна А. Ю. отримала нові наукові дані, які мають практичне значення.

Впровадження в практичну медицину нового вітчизняного діуретика сприятиме оптимізації лікування хворих з патологією серцево-судинної системи, нирок і набряком легень.

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано інформаційний лист «Діуретична активність нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну» (№ 189-2017, 2017 р.), який затверджено Укрмедпатентінформ і пропонується для впровадження в заклади охорони здоров'я.

Результати дисертаційної роботи впроваджено у науково-педагогічний процес кафедр вищих медичних (фармацевтичних) навчальних закладів України: фармакології з клінічною фармакологією ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України»

(протокол № 1 від 03.01.2018 р.); загальної та клінічної фармації ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол № 6 від 16.01.2018 р.); фармації ДВНЗ «Буковинський державний медичний університет» (протокол № 10 від 23.01.2018 р.); експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗ «Українська медична стоматологічна академія» (протокол № 12 від 14.02.2018 р.); організації та економіки фармації і технології ліків ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» (протокол № 3 від 12.03.2018 р.); фармакології Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця (протокол № 27 від 14.05.2018 р.).

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

Дисертаційна робота Маркіної Анни Юріївни «Фармакологічне дослідження естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот як потенційних діуретичних засобів» виконана на сучасному науковому рівні з використанням адекватних методів дослідження, достатньої кількості лабораторних тварин та експериментальних моделей. Результати дисертації цілком переконливі, їх достовірність не викликає сумнівів.

Наукові положення та висновки дисертації є обґрунтованими та узгодженими з метою та завданнями дослідження.

Матеріал, наведений у дисертаційній роботі Маркіної А. Ю., є новим як з наукової точки зору, так і перспективним для впровадження у практичну медицину і фармацію.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих роботах і в авторефераті.

За матеріалами дисертації опубліковано 17 наукових праць: 7 статей, у фахових виданнях, рекомендованих МОН України (з них 1 стаття – у науковому іноземному виданні), 7 тез доповідей, 1 інформаційний лист. Одержано 1 патент на винахід та 1 патент на корисну модель.

Вважаю, що опубліковані результати достатньо повно відображають зміст дисертаційної роботи. Автореферат дисертації як за структурою, так і за змістом, відповідає основним положенням роботи.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота складається з анотації, змісту, переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, 4 розділів власних досліджень, розділу «Аналіз і узагальнення результатів», висновків та списку використаних джерел, що включає 316 найменувань (з них 164 – кирилицею, 152 – латиницею), додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 156 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 25 таблицями та 24 рисунками.

У додатках представлені акти впровадження результатів дослідження у науково-педагогічний процес кафедр Вищих навчальних закладів України, інформаційний лист МОЗ України і патенти України винахід і на корисну модель.

Основний зміст дисертації та його оцінка.

Дисертаційна робота починається з **анотації**, яка оформлена згідно з вимогами наказу № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертації».

Вступ характеризується загальноприйнятим порядком викладення матеріалу. На початку автор обґрунтовує актуальність вибору теми дослідження, про що свідчать посилання літератури, які, на сьогоднішній день, підтверджують необхідність у створенні нових вітчизняних діуретичних препаратів. У вступі чітко сформульовані мета і завдання дослідження, наукова новизна та практичне значення одержаних результатів, наведено інформацію про публікації та апробацію результатів досліджень.

Мета роботи сформульована чітко і є теоретично обґрунтованою. Завдання, які вирішуються для досягнення мети, є чіткими та конкретними.

В **огляді літератури** дисертант розглядає сучасну номенклатуру та класифікацію діуретичних засобів, механізми їх дії, застосування в медицині,

побічні ефекти. Приділено увагу аналізу супутніх видів фармакологічної активності, екстраренальних ефектів діуретиків. Автор також розглядає фармакологічні властивості похідних 2-оксоіндоліну та показує перспективи їх застосування в медицині, приділяючи належну увагу аналізу ряду досліджень сполук близьких за хімічною структурою, які були синтезовані на кафедрі аналітичної хімії НФаУ професором С.В. Колісником.

У **другому розділі** описано методи дослідження: фармакологічні (вивчення діуретичної активності при одноразовому, багаторазовому введенні за умов спонтанного діурезу, водного та сольового навантаження; визначення середньої летальної дози, встановлення умовно-ефективної дози, вивчення антигіпоксичної активності, моделювання набряку лапи у щурів; моделювання гострого пошкодження нирок гліцеролом (ГПНГ) та гемодинамічного набряку легень (ГНЛ); біохімічні (визначення вмісту креатиніну, білка, сечової кислоти, сечовини, відновленого глутатіону (ВГ), ТБК-активних продуктів (ТБК-АП)); метод фотометрії полум'я (визначення вмісту натрію та калію); гістологічні (дослідження структури тканини нирок, легень); *in vitro* (дослідження гальмування перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в системі жовточних ліпопротеїдів (ЖЛП)); мікробіологічні (дослідження антимікробної активності та мінімальної пригнічувальної концентрації (МПК)) та статистичні.

У розділі наведено інформацію про референс-препарати, які було використано для проведення дисертаційних досліджень: фуросемід, гідрохлортіазид, індапамід, натрію диклофенак, бутилгідрокситолуол, етилметилгідроксипіридину сукцинат, спіронолактон, домперидон. Для моделювання набряку легень використано адреналін, міоглобінуричної гострої ниркової недостатності – гліцерол.

У **третьому розділі** викладено результати комп'ютерного прогнозу можливих видів фармакологічної активності ацильованих похідних 2-оксоіндоліну, визначено сполуку-лідера (умовна назва "індолінорен") та її умовно -ефективну дозу в експерименті з водним навантаженням. Визначено вплив сполуки-лідера на добовий діурез. Наведено результати дослідження

гострої токсичності індолінорену, які дозволяють віднести досліджувану сполуку до VI класу токсичності (відносно нешкідливі речовини).

У **четвертому розділі** дисертант показує особливості впливу індолінорену на видільну функцію нирок за різних їх функціональних станів, досліджує взаємодію із спіронолактоном та домперидоном. При проведенні даних досліджень було виявлено салуретичну дію, синергізм із конкурентним антагоністом альдостерону, модуляцію впливу блокатора дофамінових рецепторів на видільну функцію нирок.

Розділ п'ятий присвячений дослідженню супутніх фармакологічних властивостей індолінорену – антиексудативної, помірної антимікробної, антиоксидантної та антигіпоксичної.

У **шостому розділі** автором представлено результати досліджень щодо ефективності індолінорену при експериментальному набряку легенів, викликаному введенням адреналіну гідротартрату, де показана протинабрякова дія досліджуваного засобу, та ефективності індолінорену при експериментальній гострій нирковій недостатності, де доведено його нефропротекторна та антиоксидантна активність. Результати підтверджено гістологічними дослідженнями.

У розділі «**Аналіз та узагальнення результатів**» дисертант підсумовує та аналізує результати, викладені у попередніх розділах дисертації.

У заключний розділ роботи автор виносить підсумкове узагальнення отриманих результатів, співставляючи власні дані з відомими даними літератури та робить цілком обґрунтовані висновки, виявляючи достатній рівень наукової ерудиції. Обговорення отриманих результатів проведено глибоко та всебічно.

Список використаних джерел наукової літератури наведено в алфавітному порядку. Він оформлений за чинними вимогами, складається з 316 найменувань (з них 164 – кирилицею, 152 – латиницею).

Ідентичність змісту автореферату й основних положень дисертації.

Тексти дисертації та автореферату написано українською мовою із дотриманням наукового стилю. Автореферат відповідає дисертації за змістом і структурою.

Істотних недоліків у дисертаційній роботі та авторефераті не виявлено. Робота написана логічно з дотриманням існуючих вимог щодо структури, змісту та технічного оформлення. Висновки роботи логічно обґрунтовані результатами дослідження, чітко сформульовані.

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

1. В огляді літератури бажано було дати більше інформації і акцентувати увагу на препаратах, які є на фармацевтичному ринку України.

2. У багатьох випадках для досліджуваних показників стандартна помилка середнього значення вибірки перевищувала 10 % від середнього значення (10 % є допустимою нормою).

3. У дисертаційній роботі наведено посилання на підручники і посібники, кількість яких становить більше 10 % (33 посилання).

4. У розділах експериментальних досліджень повторюються описи моделей та методики досліджень, які є в дисертації у розділі "Матеріали та методи дослідження».

Проте вищезазначені зауваження не зменшують загальної позитивної оцінки і значення дисертації, яка є закінченим дослідженням з достатньою науковою новизною, теоретичним та практичним значенням одержаних результатів.

У порядку наукової дискусії вважаю доцільним, щоб дисертант відповіла на наступні запитання:

1. Які, на Вашу думку, є переваги у субстанції "Індолінорен" над препаратами порівняння?

2. Поясніть, будь ласка, механізм дії досліджуваної Вами субстанції.

3. На основі яких даних можна стверджувати про наявність

урикозуричної та гіпоазотемічної дії у індолінорену?

Відповідність дисертації вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів».

Дисертаційна робота Маркіної Анни Юріївни «Фармакологічне дослідження естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот як потенційних діуретичних засобів» є закінченою, самостійною кваліфікаційною науково-дослідною роботою. Дисертація оформлена належним чином, містить нові, раніше не захищені науково обґрунтовані положення з фармакології, що в сукупності становлять суттєвий внесок у вирішення актуальної наукової проблеми та обґрунтовують доцільність подальшого вивчення сполуки-лідера (індолінорену) як засобу із сечогінною дією.

За актуальністю, об'ємом проведених досліджень, новизною отриманих результатів, практичним значенням дисертація Маркіної Анни Юріївни відповідає вимогам пункту 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р., а її автор заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – «Фармакологія».

Офіційний опонент:

Завідувач кафедри фармакогнозії

з медичною ботанікою ДВНЗ "Тернопільський

державний медичний університет

імені І. Я. Горбачевського МОЗ України",

доктор фармацевтичних наук, професор

С. М. Марчишин

