

ВІДГУК

офіційного опонента доктора фармацевтичних наук, професора, завідувача кафедри фармакоекономіки Національного фармацевтичного університету МОЗ України Яковлевої Лариси Василівни на дисертаційну роботу Мацькевич Катерини Володимирівни на тему «Експериментальне дослідження фосфорильованих похідних оксазолу як потенційних антигіпертензивних засобів», подану до спеціалізованої Вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті МОЗ України для захисту на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

Актуальність обраної теми дисертаційної роботи Мацькевич К. В. «Експериментальне дослідження фосфорильованих похідних оксазолу як потенційних антигіпертензивних засобів» обумовлена значною поширеністю артеріальної гіпертензії (АГ) та високою інвалідизацією та смертністю осіб працездатного віку. За даними МОЗ України частка хворих на артеріальну гіпертензію складає 30 % у міській місцевості та 36 % у сільській.

Ессенціальна АГ викликає значну кількість ускладнень багатьох органів та систем, що призводять до ішемічної хвороби серця, гострого порушення коронарного кровообігу, гіпертрофії лівого шлуночка та інфаркту міокарда, судинної деменції, гострої гіпертензивної енцефалопатії, транзиторної ішемічної атаки та інсульту, ангіопатій, склеротичних змін стінок судин тощо.

Сучасний фармацевтичний ринок України представлений значною кількістю антигіпертензивних лікарських засобів, проте досягнення та підтримка цільового рівня артеріального тиску є складною проблемою, оскільки ефективність лікування хворих на АГ залишається низькою. Неадекватне зниження артеріального тиску частково спричинене низькою прихильністю пацієнтів до терапії, що викликано побічними ефектами лікарських засобів та складними схемами лікування. Тому пошук нових

ефективних та безпечних антигіпертензивних лікарських засобів є важливим завданням сучасної фармакології, чому і присвячена робота Мацькевич К. В.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії Національного медичного університету імені О. О. Богомольця «Пошук та вивчення механізмів дії нових потенційних кардіопротекторних та антигіпертензивних сполук» (номер держреєстрації 0118U003693) та «Вивчення механізмів ушкодження міокарду при експериментальній кардіоміопатії та її корекції новими координаційними сполуками германію та сполуками метаболітної дії» (номер держреєстрації 0115U000701), у яких автор є співвиконавцем.

Основний зміст дисертації та його оцінка

На початку роботи представлена анотація українською та англійською мовами, в якій стисло викладені основні положення дисертації, їх наукова новизна та практичне значення. Наводиться список публікацій дисертанта за темою дисертації.

У *вступі* чітко обґрунтовано та викладено актуальність проблеми, визначено мету і задачі дослідження, коректно та чітко сформульовано предмет та об'єкт дослідження, наведено наукову новизну та практичну значимість роботи, вказано особистий внесок здобувача у виконанні дисертації, наукові заходи, де проведена апробація фрагментів роботи.

Перший розділ (огляд літератури) присвячений сучасним уявленням про поширення артеріальної гіпертензії та про наслідки, до яких призводить дане захворювання. Посилаючись на дані доказової медицини, автор описує недоліки та побічні ефекти, які викликають антигіпертензивні препарати першої лінії, а саме β -адреноблокатори, блокатори кальцієвих каналів, інгібітори АПФ, блокатори рецепторів ангіотензину II та діуретики. Окрема увага приділена проблемам сучасної фармакотерапії резистентних форм АГ та поліпрагмазії. Дисертант наводить перспективні напрями пошуку нових антигіпертензивних препаратів вітчизняних та закордонних вчених.

Другий розділ «Матеріали та методи дослідження» містить опис використаних сполук із зазначенням хімічних формул та референтних препаратів, відомості про лабораторних тварин, дизайн експериментальних досліджень, опис методів визначення показників та моделей патології, статистичної обробки даних. Дисертантом обґрунтовані вибір доз та шляхів введення досліджуваних об'єктів. Матеріали, моделі та методи, використані в роботі, дозволяють об'єктивно та комплексно вирішити поставлені в роботі завдання.

У третьому розділі автор описує результати скринінгових досліджень щодо встановлення наявності вазодилатуючої дії фосфорильованих похідних оксазолу на ізольованих кільцях аорти щурів.

За результатами розділу 3 встановлено, що:

- 1) у ряду фосфорильованих похідних оксазолу, що складається із 10-ти хімічних речовин, сполукою-лідером є ОВП-1, яка в концентрації $1 \cdot 10^{-5}$ М найбільшою мірою знижувала амплітуду сили скорочення гладеньких м'язів аорти, ініційованого адреналіном, на 30,9 % ($P < 0,05$);
- 2) при одночасній наявності в перфузаті ОВП-1 та верапамілу амплітуда сили скорочення гладеньких м'язів аорти, ініційованого адреналіном, знижувалася на 51,8 % ($P < 0,05$);
- 3) Ефективність вазодилатаційної активності під впливом ОВП-1 при наявності в перфузаті L-NAME була нижчою на 54 % ($4,62 \pm 0,38$ мН) порівняно з даними, виявленими за таких же умов без участі в перфузаті L-NAME ($3,00 \pm 0,39$ мН), що може свідчити про можливість впливу даної сполуки на систему оксиду азоту.

У розділі четвертому дисертаційної роботи висвітлені результати дослідження гострої та хронічної токсичності сполуки-лідера ОВП-1. При оцінці гострої токсичності ОВП-1 внутрішньошлунково вводили мишам в максимальній рекомендованій дозі 5000 мг/кг, передбаченій при даному шляху введення, із використанням експрес-методу «limit test». Встановлена

ефективності при моделюванні гострої АГ побудований графік залежності доза-ефект та визначено середньоелективну дозу ED₅₀ похідного оксазолу – 24,19±2,98 мг/кг (ДІ 95%: 23,09÷ 25,29 мг/кг).

Визначено, під впливом ОВП-1 частота серцевих скорочень практично не змінювалася при його введенні в дозах 1 мг/кг, 5 мг/кг та 25 мг/кг, проте в дозі 50 мг/кг даний параметр знижувався на 25,59% (P<0,05) у наркотизованих кролів та при наступному моделюванні гострої артеріальної гіпертензії – на 13,14 % (P<0,05) порівняно з вихідними значеннями.

Антигіпертензивний ефект ОВП-1 в дозі 25 мг/кг (ED₅₀) пов'язаний із зниженням систолічного артеріального тиску на 32,7 % (P<0,05), загального периферичного опору судин – на 40,9 % (P<0,05) відносно вихідного рівня та робочого індексу лівого шлуночка на 58,3 % (P<0,05) відносно контрольної групи після введення адреналіну.

При моделюванні стійкої артеріальної гіпертензії у щурів внутрішньоочеревинне лікувальне введення ОВП-1 в дозі 25 мг/кг протягом 7 діб призводило до зниження артеріального тиску на 27,0 % (P<0,05) та збільшення діурезу на 110,8 % (P<0,05), що підтверджує виразну антигіпертензивну дію сполуки-лідера.

У шостому розділі автор досліджує можливі механізми антигіпертензивної дії ОВП-1 на моделі стійкої сольової АГ у щурів. Відомо, що дана модель АГ може призводити до розвитку метаболічного синдрому, протеїнурії, індукованого адипоцитами підвищення виділення альдостерону та подальшої нефропатії. В свою чергу, клубочкові ураження на фоні розвитку АГ спричиняють гломерулосклероз та ендотеліальну дисфункцію. Сольове навантаження викликає зниження активності супероксиддисмутази, ниркову та судинну блокаду ендотеліозалежної вазорелаксації, розвиток оксидативного стресу та інактивацію виділення NO. Тому за даних умов моделювання АГ вивчення можливих механізмів антигіпертензивної дії ОВП-1 доцільно було продовжити із дослідження його впливу на систему оксиду азоту.

Встановлено, що під впливом ОВП-1 50 мг/кг активність eNOS в аорті, вміст нітрит-іонів в аорті, серці та сироватці крові практично відновлювалися до відповідних значень в групі інтактних тварин, активність iNOS зменшилася на 37,9 % ($P < 0,05$) в аорті, 43,8 % ($P < 0,05$) в серці та 40,5 % ($P < 0,05$) в сироватці крові порівняно з групою контрольної патології, де розвивалась АГ. Водночас досліджувана сполука зменшувала активність фосфодіестерази, зокрема в дозі 50 мг/кг відновлювала її в аорті, серці та сироватці крові практично до значень, встановлених в інтактній групі, що може свідчити про можливий вплив ОВП-1 на збільшення синтезу вазодилатуючого фактора цГМФ, який приймає участь у вазодилатації.

Досліджений вплив ОВП-1 на жирнокислотний (ЖК) спектр ліпідів тканин та сироватки крові. Введення ОВП-1 в дозі 25 мг/кг призводило до відновлення ліпідних показників насичених ЖК, ненасичених ЖК та поліненасичених ЖК в сироватці крові, аорті, серці, нирках і печінці та вмісту холестеролу в сироватці крові. В аорті спостерігалось відновлення вмісту пальмітинової ($30,1 \pm 1,5$ %), стеаринової ($14,0 \pm 1,0$ %) лінолевої ($28,0 \pm 1,5$ %) та арахідонової ($5,5 \pm 0,5$ %) кислот, який був порушений у групі щурів з контрольною патологією. Подібна тенденція відновлення вмісту лінолевої та арахідонової кислот досліджена в серці порівняно з групою контрольної патології. Водночас в сироватці крові був перевірений вміст триацилгліцеролів (ТАГ) та встановлено, що під впливом ОВП-1 він зменшувався на 44,3 % ($P < 0,05$) відносно інтактної групи. В фізіологічних умовах насичені жирні кислоти потрапляють в клітину з метою забезпечення її енергетичних потреб у складі ТАГ через ЛПНЩ шляхом активного транспорту, який є основним шляхом. Зниження вмісту ТАГ під впливом ОВП-1 сприяло нормалізації обміну ліпідів та енергетичних процесів.

Розділ «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» є заключною частиною дисертації, в якій автор підсумовує отримані результати, обґрунтовує наявність антигіпертензивних властивостей досліджуваних об'єктів, пояснює елементи механізму дії, порівнює дані

власних досліджень з даними літератури.

Висновки логічно витікають з поставлених завдань та результатів дослідження і свідчать про фаховість автора.

Наукова новизна отриманих результатів полягає в експериментальному дослідженні фосфорильованих похідних оксазолу в якості антигіпертензивних засобів та обґрунтуванні доцільності розробки ефективних та безпечних лікарських препаратів на їх основі.

Вперше отримано дані щодо вазодилатаційної активності зазначеного ряду сполук на ізольованих кільцях аорти щурів. Встановлено, що сполукою-лідером в групі фосфорильованих похідних оксазолу є ОВП-1, яка найбільшою мірою знижувала амплітуду скорочення гладеньких м'язів аорти, ініційованого адреналіном, на 30,9 % ($P < 0,05$) та на 51,8 % ($P < 0,05$) за умови присутності в перфузаті блокатора кальцієвих каналів верапамілу.

Встановлено дані щодо токсикологічних властивостей ОВП-1. При дослідженні гострої токсичності на мишах сполуку віднесено до V та VI класів токсичності відповідно при внутрішньошлунковому та внутрішньоочеревинному шляхах уведення. При аналізі хронічної токсичності ОВП-1 в дозах 5 мг/кг, 50 мг/кг та 500 мг/кг виявлено відсутність її токсичного впливу на основні показники життєдіяльності щурів.

Вперше доведена ефективність антигіпертензивної дії ОВП-1 при моделюванні гострої АГ у кролів та стійкої АГ у щурів. Встановлено ED_{50} досліджуваної сполуки $24,19 \pm 2,98$ мг/кг (ДІ 95%: $23,09 - 25,29$ мг/кг) при внутрішньоочеревинному введенні. При щоденному введенні протягом 7 діб щурам із сформованою стійкою АГ похідне 1,3-оксазол-4-іл-фосфонової кислоти у дозі 25 мг/кг виявило виражену антигіпертензивну дію. На першу добу після введення ОВП-1 артеріальний тиск знижувався на 27,0 % ($P < 0,05$), а на 7 добу – на 19,4 % ($P < 0,05$) відносно даних, що зареєстровані у тварин з нелікованою артеріальною гіпертензією. Водночас діурез збільшувався на 110,8 % ($P < 0,05$) на 1-шу добу та на 75,8% ($P < 0,05$) на 7-му добу порівняно з відповідним значенням до початку введення сполуки, чого не виявлено у

групах щурів, яким вводили препарати порівняння амлодипін 1,5 мг/кг та небіволол 10 мг/кг.

Отримані нові дані, які підтверджують що механізм антигіпертензивної дії ОВП-1 пов'язаний із впливом на систему оксиду азоту, а саме на відновлення вмісту NO_2^- та активності eNOS, iNOS в досліджених аорті, серці та сироватці крові. Водночас введення ОВП-1 50 мг/кг призводило до відновлення активності фосфодіестерази практично до значень інтактної групи. Під впливом похідного оксазолу в дозі 25 мг/кг (ED_{50}) вміст Ca^{2+} зменшувався на 47,3 % ($P < 0,05$) в аорті та 59,5 % ($P < 0,05$) в сироватці крові порівняно з групою контрольної патології.

Практичне значення отриманих результатів. На основі проведених досліджень і отриманих результатів автором підтверджено практичну значимість роботи патентами України на корисну модель № 103911 від 12.01.2016, № 103908 від 12.01.2016, № 131345 від 10.01.2019). Результати дослідження входять до Переліку наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження в сферу охорони здоров'я (реєстраційні номери повідомлень №476/3/16, №480/3/16).

Фрагменти дисертаційної роботи впроваджені в науково-дослідну роботу Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, Інституту гігієни та екології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В. П. Кухаря НАН України, Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України.

Застосування нового класу ефективних та безпечних лікарських засобів з антигіпертензивними властивостями на основі фосфорильованих похідних оксазолу дозволить оптимізувати фармакотерапію артеріальної гіпертензії.

Обсяг та структура дисертації. Обсяг, структура та послідовність викладення матеріалу є традиційним для робіт даного профілю та відповідають встановленим вимогам. Обсяг дисертації складає 237 сторінок.

Дисертаційна робота складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Робота проілюстрована 34 таблицями та 12 рисунками. Список використаних джерел містить 189 літературних посилань, з яких 68 – кирилицею та 121 – латиною.

Джерела, що опубліковані за останні 10 років, склали 63 %.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Результати роботи Мацькевич К. В. є цілком переконливі та достовірні, оскільки базуються на адекватних методах дослідження, достатній кількості експериментів, коректній математичній та статистичній обробці та професійній інтерпретації результатів.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих роботах і в авторефераті. Результати, отримані дисертантом, широко висвітлені в наукових публікаціях (21 наукова праця), з яких 8 статей, серед яких 5 – у наукових профільних виданнях, рекомендованих МОН України, 3 – у зарубіжних наукових виданнях, 3 патенти України на корисну модель, 10 тез доповідей. Видання віддзеркалюють основні результати досліджень Мацькевич К. В. Зміст автореферату цілком відповідає змісту виконаної дисертаційної роботи і відображає обсяг, наукову новизну та практичне значення проведених досліджень.

Недоліки дисертації і автореферату щодо їх змісту та оформлення. Текст дисертації та автореферату викладено українською мовою з дотриманням наукового стилю. Їх оформлення в цілому відповідає сучасним вимогам МОН України щодо викладення, об'єму, структури, посилань на джерела літератури.

Зауваження: Суттєвих недоліків у дисертаційній роботі та авторефераті не виявлено. Проте в процесі роботи з дисертацією виникли деякі зауваження. По тексті дисертації зустрічаються помилки та невдалі

вирази. Наприклад, стор.104 – замість «детоксикація» вжито «детоксифікація», у родовому відмінку вжито «шлунку» замість «шлунка» (стор.93), «вздуття» замість «здуття» (стор.93). На стор. 83 написано, що «Порівняння ефективності дії на ГМ кільцевих (а треба – кільцеві) сегментів (а треба сегменти) аорти сполуки лідера ОВП-1 в різних концентраціях виявили існування розбіжностей за величиною вазодилатаційного впливу ($P < 0,05$)». На рис.3.2 не вказані довірчі інтервали порівнюваних ефектів, тому зрозуміло, що кожний з ефектів є достовірним, але чи є різниця між ними достовірною (48,2 % і 46 %) – це не зрозуміло.

Вищезазначені зауваження не зменшують загальної позитивної оцінки та значення дисертаційної роботи, яка є закінченим дослідженням з науковою новизною, теоретичним та практичним значенням одержаних результатів.

Крім того хотілося б почути точку зору дисертанта на запитання, що виникли у процесі рецензування:

1. Ви вважаєте, що сполука ОВП-1 безпосередньо впливає на всі встановлені вами зміни біохімічних показників: систему NO, активність ФДЕ, вміст іонів кальцію, жирні кислоти? Чи може вона включати якийсь один механізм, після чого вибудовується ланцюжок пов'язаних один з одним впливів, який призводить до розширення судин?

2. У зв'язку з хімічною структурою ОВП-1, яку первинну точку впливу на серцево-судинну систему Ви передбачаєте?

3. Яку лікарську форму та шлях введення Ви передбачаєте як найдоцільніші для ОВП-1?

4. Чи не вважаєте Ви, що першочерговою фармакологічною дією ОВП-1 є його діуретична дія? Відповідь поясніть. Чи виявляє ОВП-1 діуретичну дію у щурів на моделі АГ несольового походження?

Ідентичність змісту автореферату й основних положень дисертації.

Тексти дисертації та автореферату написано українською мовою із дотриманням наукового стилю. Оформлення дисертації та автореферату

відповідає вимогам МОН України щодо викладення, об'єму, структури, ілюстрацій, посилань та джерел наукової літератури. Автореферат відповідає дисертації за змістом та структурою.

Відповідність дисертації обраній спеціальності, профілю спеціалізованої вченої ради та вимогам МОН України. Дисертаційна робота Мацькевич Катерини Володимирівни «Експериментальне дослідження фосфорильованих похідних оксазолу як потенційних антигіпертензивних засобів» є завершеною науковою роботою, яка містить науково обґрунтовані результати вирішення пошуку та фармакологічного дослідження фосфорильованих похідних оксазолу і є перспективним напрямком сучасної фармакології.

За актуальністю, науковою новизною, практичним значенням, методичним рівнем робота Мацькевич К. В. «Експериментальне дослідження фосфорильованих похідних оксазолу як потенційних антигіпертензивних засобів» відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567 (зі змінами), а її автор заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Офіційний опонент

доктор фармацевтичних наук, професор,
завідувач кафедри фармакоелектрофізіології
Національного фармацевтичного університету,
заслужений діяч науки і техніки України

Л. В. Яковлева

Підпис проф. Л.В.Яковлевої ЗАСВІДЧУЮ
Нач. ВК НФаУ



З.Ф.Подстрелова