

## ВІДГУК

офіційного опонента доктора фармацевтичних наук, професора, завідувача кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України Марчишин Світлани Михайлівни на дисертаційну роботу Крамар Ганни Іванівни “Пошук та вивчення речовин з аналгетичною дією в ряду нових похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну (експериментальне дослідження)”, яку подано до спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті МОЗ України на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

### Актуальність теми дисертації

Біль – це типовий, еволюційно вироблений процес, який виникає при дії на організм ноцицептивних факторів або в результаті пригнічення антиноцицептивної системи і характеризується інтеграцією дискримінативно-сенситивного, мотиваційно-афективного, нейроендокринного та когнітивного компонентів адаптаційної відповіді. З одного боку біль є надважливий фізіологічним захисним механізмом, який здатний мобілізувати всі системи організму, спрямовані на виживання, з іншого боку, це симптом, який супроводжує майже 90 % захворювань. Згідно з даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, у розвинених країнах біль за поширеністю можна порівняти з пандемією.

Незважаючи на суттєві досягнення в лікуванні гострого та хронічного болю, ця проблема залишається актуальною, що пов'язано не лише з високою поширеністю захворювань, які супроводжуються больовим синдромом, а і зростанням кількості аварій, техногенних катастроф, війн; обмеженим використанням окремих аналгетиків через їх низький знеболюючий ефект та наявність низки побічних реакцій (гастро-, нефро-, гемато-, гепатотоксичність), які становлять загрозу для життя пацієнтів. Тому пошук та розробка

високоєфективних та безпечних лікарських засобів для лікування больового синдрому різного походження є надзвичайно важливим для сучасної медицини.

Інтерес представляють похідні 4-оксо (аміно-) хіназоліну, які є перспективним класом хімічних речовин та, за даними джерел наукової літератури, мають церебро-, кардіо-, стрес- та актопротекторні, а також антиоксидантні властивості та низьку токсичність. Оцінка вірогідної наявності окремих видів фармакологічної активності, отримана за допомогою комп'ютерної програми віртуального скринінгу (PASS C&T), показала, що похідні 4-оксо (аміно-) хіназоліну можуть проявляти аналгетичну дію.

Дослідження аналгетичної дії в ряду похідних 4-оксо (аміно-) хіназоліну розширить уявлення про фармакодинаміку похідних хіназоліну та його конденсованих аналогів.

Отже мета поставлена автором – встановити наявність та ступінь знеболювальної дії в ряду нових похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну, виявити сполуку-лідера, конкурентоспроможну з сучасними препаратами та визначити її перспективність для створення нового лікарського засобу – цілком обґрунтована.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, темами**

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, затверджених МОЗ України: «Пошук та розробка нових шляхів оптимізації фармакологічних ефектів нестероїдних протизапальних засобів» (№ держреєстрації - 0111 U 002571; 2011-2015 рр.); «Пошук та вивчення біологічно активних речовин серед природних сполук та продуктів хімічного синтезу» (№ держреєстрації 0118U001903; 2018-2022 рр.). Автор є співвиконавцем зазначених тем.

## **Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність**

Наукові положення дисертаційної роботи Крамар Г.І. мають достатній рівень обґрунтованості й достовірності, оскільки у ході досліджень використано адекватні методичні прийоми, достатня кількість лабораторних тварин на достатній кількості експериментів, що відповідають сучасним уявленням про патогенез больового синдрому. Коректна статистична обробка даних із використанням сучасного програмного забезпечення дозволила отримати достовірні результати. Зміст дисертації викладено логічно та послідовно, а висновки роботи є обґрунтованими та узгодженими з метою та завданнями дослідження.

Матеріал, наведений у дисертаційній роботі Крамар Г. І., є новим як з наукової точки зору, так і перспективним для впровадження у практичну фармацію та медицину.

## **Новизна дослідження та власних результатів**

Дисертація Крамар Ганни Іванівни “Пошук та вивчення речовин з аналгетичною дією в ряду нових похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну (експериментальне дослідження)” є завершеним науковим дослідженням, містить незахищені наукові положення та відноситься до фундаментальних досліджень.

У проведених дослідженнях Крамар Г.І. вперше експериментально обґрунтувала наявність аналгетичного ефекту у нових похідних 4-оксо(аміно)хіназоліну (10 мг/кг в/оч). Виявлено, що аналгетична активність досліджуваних сполук визначається природою замісника у 3-му положенні хіназолінового циклу. Дисертанткою встановлено, що за тривалістю аналгетичної дії та показником  $ED_{50}$  сполукою лідером є ПК-66 (1 мг/кг).

Автором з'ясовано, що аналгетичний ефект ПК-66 поєднується з протизапальною дією, адже ця сполука позитивно впливала на усі компоненти запального процесу. За антиальтеративною дією ПК-66 (1 мг/кг в/оч) вірогідно

переважала дію натрію диклофенаку (4 мг/кг, в/оч), за антиексудативною – поступалась препарату-порівняння, а за антипроліферативною – співставлялась з дією натрію диклофенаку. Вперше доведено лікувальну дію сполуки ПК-66 у дозі 1 мг/кг на моделі ад'ювантного артриту у щурів та оцінено ступінь її безпечності (ВІ – 0,31 балів) щодо основних органів-мішеней токсичного впливу ненаркотичних анагетиків (шлунку, суглобів, крові).

Тобто, ПК-66 виявляє потужну анагетичну, помірну протизапальну дію і є найбільш безпечною щодо ШКТ порівняно із сучасними ненаркотичними аналогами.

На моделях больового синдрому, Крамар Г. І. вперше показано, що антиноціцептивна дія ПК-66 (1 мг/кг) реалізується через рецепторні (альфа-2-адренорецептори, дофамінові рецептори, ГАМК-рецептори) та нереперторні механізми (зменшують сумарну активність РGH-синтетази).

Наукова новизна роботи підтверджена патентом України на корисну модель № 79947 «Застосування 4-[4-оксо-(4Н)-хіназолін-3-іл] бензойної кислоти як засобу з центральною знеболюючою дією».

### **Практичне значення отриманих результатів**

Дисертаційне дослідження має практичне значення, оскільки вперше розширило наші уявлення про фармакодинаміку похідних хіназоліну, вказало на доцільність подальших поглиблених досліджень сполуки ПК-66 з метою створення потенційного неопіїдного лікарського засобу з оригінальним механізмом дії, високою анагетичною активністю та безпечністю.

Результати дисертаційної роботи стали підставою для видання інформаційного листа МОЗ України про нововведення в сфері охорони здоров'я: «Застосування нових похідних 4-оксо(аміно-) хіназоліну як засобів з центральною знеболюючою дією» (№268-2014).

Фрагменти дисертації впроваджено в наукову роботу наукової лабораторію хіміко-фармакологічних досліджень Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (протокол № 5 від 16.01.2019 р.),

науково-дослідний інститут медико-біологічних проблем Дніпропетровської медичної академії (протокол № 6 від 21.12.2018 р.), наукову роботу відділу НДІ реабілітації інвалідів Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол № 4 від 19.09.2019 р.), в науково-педагогічний процес кафедр органічної і біоорганічної хімії, Запорізького державного медичного університету (протокол № 4 від 16.10.2019 р.), фармакології ВДНЗ України «Буковинського державного медичного університету» (протокол № 1 від 29.08.2019 р.), патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (протокол № 7 від 21.11.2019 р.).

### **Повнота викладання матеріалів дисертації в опублікованих працях**

Основні результати і нові наукові положення дисертації повністю відображені в публікаціях у наукових журналах та матеріалах наукових форумів.

За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 17 наукових праць: 7 статей, серед яких 5 – у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 2 – у зарубіжних періодичних наукових виданнях, в т.ч. 1 - у міжнародній наукометричній базі даних Scopus, 8 тез доповідей, 1 патент України на корисну модель (№ 79947), 1 інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я.

### **Основний зміст дисертації та його структура**

Дисертаційна робота являє собою рукопис, викладений на 219 сторінках комп'ютерного друку, що складається з анотації українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 5 розділів власних досліджень, розділу «Аналіз та узагальнення результатів», висновків і списку використаних джерел. Список використаних джерел включає 334 найменування, з яких 174 кирилицею та 160 латиною. Обсяг основного тексту дисертації складає 168 сторінок друкованого тексту.

Робота проілюстрована 37 таблицями та 28 рисунками. Структура та обсяг рукопису відповідають вимогам до кандидатських дисертацій.

**Анотація** до дисертаційної роботи оформлена згідно з вимогами наказу № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертацій».

**Вступ** викладено лаконічно із залученням посилань на узагальнюючі джерела літератури, є достатнім як з позиції актуальності обраної теми, так і сформульованої мети і завдань досліджень. У вступі охарактеризована наукова новизна досліджень і їх практична цінність. Наведено дані щодо публікацій та апробації основних результатів досліджень.

**В огляді літератури (розділ 1)** наведено системні та сучасні уявлення про патофізіологічні механізми больового сприйняття. Автором досить детально описано засоби для лікування больового синдрому, показано їх переваги та недоліки. В даному розділі розглянута роль різних похідних хіназолінів у фармакотерапії болю. Огляд даних літератури, в цілому, висвітлює сучасний стан проблеми.

У **розділі 2** «Матеріали та методи дослідження» описано характеристику тест-зразків різних похідних 4-оксо(аміно) хіназоліну, які синтезовані на кафедрі органічної і біоорганічної хімії Запорізького державного медичного університету під керівництвом проф. С. І. Коваленка.

При виконанні дисертаційної роботи використовували комплексний підхід із залученням фармакологічних (дослідження знеболюючої дії на моделях термічного подразнення, tail flick, електричного подразнення, оцтово-кислих корчів, модель формалінового тесту, моделі нейропатичного болю; дослідження протизапальної дії: асептична виразка шкіри, карагеніновий набряк, модель ватної гранульоми, ад'ювантний артрит); токсикологічних (дослідження гастротоксичності – за ступенем множинності, важкості виразкоутворення, величиною виразкового індексу); гематологічних – визначення ШОЕ, гемоглобіну, кількості лейкоцитів та еритроцитів; біохімічних (ферментні системи продукції простагландинів, ферментні системи продукції NO, сумарна та активність різних ізоформ NO-синтаз, вміст

малонового диальдегіду, серомукоїду, активність супероксиддисмутази, гамма-глутамілтранспептидази, вміст загального білка, альбумінів, глобулінів); морфологічних (дослідження гістологічної зміни слизової оболонки шлунка та гомілковостопних суглобів тварин), статистичних (розрахунк середньої та її стандартної похибки, довірчого інтервалу, міжгрупових відмінностей тощо) методів дослідження.

У даному розділі наведено блок-схему основних етапів дослідження, детальний опис різних моделей щодо вивчення аналгетичної, протизапальної дії, гастротоксичності, жарознижуючої активності, механізмів знеболення. На достатньому рівні автором описано біохімічні та статистичні методи, що свідчать про високий та сучасний рівень проведених автором наукових досліджень та належний рівень доказовості одержаних результатів.

**Третій розділ** присвячено скринінгу аналгетичної дії похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну, натрію диклофенаку та кеторолаку трометаміну, які проводили на моделях больового синдрому термічного подразнення хвоста щурів гарячою водою  $t$  50°C та електроімпульсним подразнення слизової оболонки прямої кишки. Показано, що нові похідні 4-оксо(аміно-)хіназоліну у дозі 10 мг/кг в/оч проявляють аналгетичну активність, яка є найбільш виразною у сполуки ПК-66. Детальне вивчення «структура-активність» вказало на наявність *n*-карбоксільної (ПК-66, ПК-195) або *m*-карбамідної (ПК-176) груп при фенільній субституенті положення 3 хіназолінового циклу, що забезпечує високий аналгетичний ефект.

Дисертантом визначено  $ED_{50}$  за аналгетичною активністю найефективніших сполук, які досліджувались. На моделях соматичного і нейропатичного больових синдромів встановлено, що сполука-лідер ПК-66 (1 мг/кг) за ефективністю антиноцицепції співставляється з ефективністю натрію диклофенаком (4 мг/кг) та кеторолаку трометаміном (2,4 мг/кг), а за активністю перевершує їх, оскільки проявляла знеболюючу дію у значно меншій дозі.

Дослідження участі опіоїдергічної системи в механізмах знеболюючої дії сполуки-лідера довели відсутність центрального опіоїдергічного механізму в

антиноцицептивній активності ПК-66. Одержані результати дали можливість спрямувати дослідження біологічних ефектів ПК-66 за схемою, що визначена для ненаркотичних анагетиків та нестероїдних протизапальних засобів.

У четвертому розділі наведено результати поглибленого вивчення фармакологічних властивостей та безпечності сполуки-лідера ПК-66, натрію диклофенаку та кеторолаку трометаміну. Встановлено, що ПК-66 (1 мг/кг в/оч) впливає на всі фази запального процесу і співставляється з натрію диклофенаком (4 мг/кг в/оч) за антиальтеративним, антиексудативним, антипроліферативним та жарознижувальним ефектами. Поряд з цим, сполука ПК-66 (0,5 мг/кг в/оч) виявляє меншу гастротоксичність при 30-ти денному введенні, ніж натрію диклофенак (2 мг/кг в/оч) та кеторолаку трометамін (1,2 мг/кг в/оч), що до певної міри асоціюється з її меншим антипростагландинним ефектом.

У п'ятому розділі дисертант наголошує, що застосування сполуки ПК-66 (1 мг/кг в/оч) на тлі ад'ювантного артриту характеризується потужною протизапальною та анагетичною активністю. За величиною протинабрякової дії ПК-66 в 1,5 разу поступається натрію диклофенаку, однак вірогідно переважає останній в 1,6 раз за ступенем анагетичної дії. Поряд з цим ПК-66 на тлі ад'ювантного артриту має меншу гастротоксичну дію, ніж препарат-порівняння. На лікувальну дію ПК-66, як і натрію диклофенаку, при ад'ювантному артриті вказувала також позитивна динаміка гематологічних показників, зниження показника ШОЕ та кількості лейкоцитів у периферичній крові, порівняно з нелікованими тваринами. Лікувальна дія ПК-66 та натрію диклофенаку при ад'ювантному артриті супроводжувалась також позитивною динамікою біохімічних показників (малонового диальдегіду, супероксиддисмутази, серомукоїду тощо).

Шостий розділ присвячений дослідженням, що стосуються встановлення гістоморфологічних змін гомілковостопних суглобів та слизової оболонки шлунка при лікуванні ад'ювантного артриту сполукою ПК-66 (1 мг/кг в/оч) та натрію диклофенаком (4 мг/кг в/оч). Показано макро- та мікроскопічні

підтвердження протизапальної активності ПК-66, що співставляється з активністю натрію диклофенаку. Автор також показала, що ульцерогенна дія ПК-66 була значно менше виражена, ніж у натрію диклофенаку.

У цьому розділі дисертаційної роботи дисертантка представляє результати дослідження механізмів антиноцицептивної та протизапальної дії сполуки ПК-66. Встановлено, що на моделі формалінового тесту у щурів, знеболююча дія ПК-66 (1 мг/кг) у більшій мірі проявилася у центральну фазу модельного патологічного стану та несуттєво впливала на запальну фазу.

Автором показано, що ПК-66 виявляє антимедіаторну дію, яка у більшій мірі обумовлена антагонізмом до брадикініну (53,4 %), в меншій – до простагландинів (38,5 %) та лейкотриєнів (27 %).

Дисертантом представлені результати дослідження механізмів анагетичного ефекту ПК-66 з використанням фармакологічних аналізаторів на моделі «tail-flick». Досліджено, що в механізмі анагетичного ефекту ПК-66 приймають участь адренергічна (зокрема  $\alpha_2$ -адренорецептори), дофамінергічна та ГАМК-ергічна системи. Встановлено наявність у сполуки ПК-66 помірного депримуючого впливу на сумарну активність PGH-синтази в плазмі крові щурів із експериментальним запальним процесом, та відсутністю цього впливу у інтактних тварин. Автор вважає, що ефект ПК-66 є результатом її інгібуючого впливу переважно на активність ЦОГ-2.

Розділ «Аналіз та узагальнення результатів» викладено у відповідності з послідовністю завдань роботи і окремих розділів дослідження. Ознайомлення з цим розділом створює враження цілісності виконаної роботи, а її автор має ґрунтовні знання в галузі сучасної наукової літератури, грамотно аналізує і описує одержані результати. Стиль викладу власних результатів досліджень чіткий, що дозволило дисертанту систематизувати одержаний матеріал і зробити науково-обґрунтовані висновки, які відповідають поставленій меті та завданням дисертаційної роботи.

Робота завершується **6 висновками**, які логічно пов'язані з результатами, повністю віддзеркалюють фактичні дані та відповідають завданням дослідження.

Список використаних джерел наведено у алфавітному порядку, оформлено за чинними вимогами, містить 337 джерел, серед яких переважають публікації останніх років, що підкреслює обізнаність дисертанта щодо сучасного стану проблеми.

### **Повнота викладу наукових положень дисертації в опублікованих працях**

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 17 наукових праць, з них 7 статей (3 – одноосібних), серед яких 5 – у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 2 – у зарубіжних періодичних наукових виданнях, 8 тез доповідей, 1 патент України на корисну модель, 1 інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я.

### **Ідентичність змісту автореферату й основних положень дисертацій**

Оформлення автореферату та дисертації відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.17 р. Автореферат цілком відповідає тексту дисертації.

Істотних недоліків у дисертаційній роботі та авторефераті не виявлено. Робота написана логічно з дотриманням існуючих вимог щодо структури, змісту та технічного оформлення, відповідає вимогам МОН України. Тексти дисертації та автореферату викладено українською мовою із дотриманням наукового стилю. Тому суттєвих зауважень немає. У текст наявні поодинокі технічні та стилістичні помилки, які не зменшують позитивну оцінку дисертації.

У порядку наукової дискусії хотілося б отримати відповідь на такі запитання:

1. Які фізико-хімічні характеристики притаманні похідним 4-оксо(аміно-)хіназоліну? У чому розчиняється сполука ПК-66 і яка її розчинність? Чи визначали чистоту сполук, що використані у Вашому дослідженні?

2. Вами проведено детальний аналіз «структура-дія», який показує як змінюється аналгетична дія залежно від зміни структури молекули досліджуваних сполук. Це можна побачити на прикладі сполук ПК-66 та ПК-199, які мають дуже подібну хімічну структуру, однак, згідно з Вашими дослідженнями, відрізняються за ступенем ефективності аналгетичної дії. Поясніть, які можливі молекулярні механізми можуть лежати в основі відмінностей антиноцицептивних ефектів вказаних сполук?
3. Які замісники у хімічній структурі ПК-66 є фармакофорами, що зумовлюють її аналгетичний ефект?
4. Чи можете Ви запропонувати методи оптимізації лікарських форм з метою зменшення ульцерогенної дії сполуки ПК-66?

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

Дисертаційна робота Крамар Ганни Іванівни «Пошук та вивчення речовин з аналгетичною дією в ряду нових похідних 4-оксо(аміно-) хіназоліну (експериментальне дослідження)», є сучасним завершеним науковим дослідженням. Сформульовані в дисертації наукові положення та висновки науково обґрунтовані та повністю викладені в опублікованих працях. Дослідження виконано на достатній кількості спостережень і на адекватному методичному рівні з використанням сучасних методик, комплексне використання яких відповідає поставленим завданням і забезпечує достовірність отриманих результатів, обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій.

Дисертаційне дослідження виконане у перспективному напрямку сучасної фармакології, відповідає обраній науковій спеціальності та профілю спеціалізованої вченої ради Д. 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті.

Отже, робота Крамар Ганни Іванівни “Пошук та вивчення речовин з аналгетичною дією в ряду нових похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну (експериментальне дослідження)” за актуальністю, об’ємом проведеного дослідження, теоретичним і практичним значенням, науковою новизною одержаних даних відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою КМ України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами), а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

**Офіційний опонент:**

Офіційний опонент,

завідувач кафедри фармакогнозії

з медичною ботанікою

Тернопільського національного медичного

університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України,

доктор фармацевтичних наук, професор



С. М. Марчишин



Особистий підпис \_\_\_\_\_

завіряю \_\_\_\_\_

Заступник ректора з кадрових питань  
Тернопільського національного  
медичного університету

