

ВІДГУК

ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА ПРОФЕСОРА МОХОРТА М.А. НА РОБОТУ КОРНІЄНКО В.І. «ПОШУК ТА РОЗРОБКА ЗАСОБУ ДЛЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІ НЕФРО- ТА КАРДІОПАТІЇ СЕРЕД N-C₈-ЗАМІЩЕНИХ І КОНДЕНСОВАНИХ ПОХІДНИХ КСАНТИНУ», ПРЕДСТАВЛЕНУ В СПЕЦІАЛІЗОВАНУ ВЧЕНУ РАДУ Д 26.550.01 ПРИ ДУ«ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ» ДЛЯ ОФІЦІЙНОГО ЗАХИСТУ НА ЗДОБУТТЯ НАУКОВОГО СТУПЕНЯ ДОКТОРА БІОЛОГІЧНИХ НАУК ЗА СПЕЦІАЛЬНІСТЮ 14.03.05 - ФАРМАКОЛОГІЯ

Актуальність теми. Урбанізація населення, бурхливий розвиток промисловості, хімізація сільського господарства призвели до різкого погіршення екологічних умов, що, в свою чергу, позначається на захворюваності та смертності населення земної кулі. На першому місці по захворюваності і смертності залишається серцево-судинна патологія. Значне місце серед патологій посідає також враження сечовидільної системи, особливо нирок. Як правило, хронічна ниркова недостатність супроводжується хронічною серцевою недостатністю чи навпаки. Такі випадки відносять до коморбідних станів (поєднаної патології), вони дуже поширені і вимагають вдумливого підходу до діагностики і лікування. Тактика лікування хворих з поєднаною патологією зводиться до комбінованого використання ліків з кардіопротекторною і нефропротекторною діями, що призводить до необхідності одночасного використання декількох лікарських засобів, які не завжди бувають безпечними в цілому для організму. Для зменшення можливих негативних впливів на організм при комплексному лікуванні захворювань, особливо коморбідної патології, вчені фармакологи направляють свої зусилля на розробку нових лікарських засобів з поліфункціональними фармакологічними властивостями, здатними проявляти лікувальну дію на пошкоджені органи і системи організму. Пошуку, розробці та вивченню фармакологічних властивостей таких сполук і присвячена праця В.І.Корнієнко. Передумовою представленої до захисту роботи стала виконана раніше дисертанткою кандидатська дисертація, яка була направлена на пошуки ефективних діуретиків теж в ряду похідних ксантину. В докторській дисертації набагато розширено віртуальний скрінінг на основі ПАС прогнозу, вивчено більше 800 сполук, серед яких виділено для подальшого сліпого фармакологічного скрінінгу 135 сполук з можливими кардіопротекторними і нефропротекторними властивостями.

Метою роботи було обґрунтування доцільності створення та вивчення механізмів дії нового нефро- та кардіопротекторного засобу серед уперше синтезованих N-C₈-заміщених і конденсованих похідних ксантину.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана на кафедрі фармакології і токсикології Харківської державної зооветеринарної академії відповідно до плану НДР Запорізького державного медичного університету «Фармакологічне дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтезованого та природного походження, їх застосування в медичній практиці» (№ держ. реєстрації 0106U003709). Всі нові сполуки синтезовані в Запорізькому державному медичному університеті під керівництвом доктора фарм. наук, професора М.І. Романенка.

Наукова новизна отриманих результатів. Дисертанткою проведено віртуальний скринінг за допомогою програми PASS більше 800 сполук похідних ксантину, серед яких віділено 135 субстанцій з прогнозованою кардіо- та нефропротекторною активністю. В подальшому за допомогою сліпого фармакологічного скринінгу серед найбільш активних похідних ксантину виділена сполука-лідер 7-бензоїлметил-8-(фурил-2) метиламінотеофілін під робочою назвою «бенфурам». Дана сполука проявляє незначну гостру токсичність та ефективно впливає на серцево-судинну систему та нирки. Дисертантом показано, що бенфурам нормалізує функцію нирок як за умов водної та водно-сольових нагрузок, так і при гострих та хронічних ураженнях нирок. Під його впливом нормалізується порушена фільтраційна, екскреторна та реабсорбційна функції нирок, підвищується діурез, підсилюється натрійуретична та зменшується калійуретрична дія. Бенфурам проявляє виражену антигіпертензивну дію за умов експериментальної пітуїтринової гіпертензії, нормалізуючи при цьому кислотно-лужну рівновагу та водно-електролітний обмін в організмі. Кардіопротекторну та нефропротекторну дію бенфураму дисертант пов'язує з впливом його на альдостеронові та аденозинові рецептори, натрійуретичний гормон. При подовженому введенні бенфураму притаманна властивість нормалізувати ліпідний обмін в організмі. Знижуючи рівень загального холестерину, загальних ліпідів, тригліцеридів, холестерину бенфурам тим самим знижує коефіцієнт атерогенності та підвищує активність ліпопротеїдів високої щільності, що зменшує прояви атеросклеротичних вражень. Отримані дисертантом дані є пріоритетними, що підтверджується отриманими патентами України.

Практичне значення одержаних результатів. Дисертантом в співавторстві на основі проведених скринінгових досліджень розроблені методичні рекомендації щодо обґрунтування можливості використання комп'ютерного прогнозу біологічної активності вперше синтезованих сполук для проведення скринінгу

фізіологічно активних речовин. Оформлено та опубліковано два інформаційні листи про нововведення в системі охорони здоров'я. Експериментально обґрунтована доцільність клінічної апробації бенфураму в якості кардіо- та нефропротекторного засобу. На підприємстві «ВАЛАРТІН ФАРМА» розроблена технологічна схема виробництва твердої лікарської форми бенфураму і розроблена аналітично-нормативна документація та методи контролю якості на пропонований лікарський засіб.

Структура роботи. Робота написана на українській мові по стандартній схемі і включає: вступ, огляд літератури, розділ «Матеріали та методи дослідження», 5 розділів власних досліджень, розділ «Узагальнення проведених досліджень», висновки та список літературних посилань, який містить 398 джерел. Дисертація ілюстрована 63 таблицями, 7 рисунками та 45 фотографіями.

В розділі «*Вступ*» дисертант обґрунтовує актуальність проблеми коморбідних патологій, зокрема кардіоренального синдрому, досягнуті успіхи в лікуванні таких станів та шляхи її подальшого вирішення, звертаючи особливу увагу на пошуки ліків з поліфункціональними фармакологічними властивостями, притаманними для кардіо- та нефропротекторам. Розробка таких ліків, на думку дисертанта, приведе до підвищення ефективності лікування таких хворих та зменшення побічних проявів лікування.

В розділі «*Матеріали та методи досліджень*» наведені узагальнені відомості про хімічні структури N-C₈-заміщених і конденсованих похідних ксантину, синтезованих в Запорізькому державному медичному університеті під керівництвом професора М.І. Романенка, які вивчала дисертант. В цьому розділі описані моделі експериментальних патологій та методики оцінки ефективності/не ефективності отриманих результатів. До цього розділу у мене зауважень немає.

В розділі 3 «Оптимізація проведення первинного фармакологічного скрінінгу N-C₈-заміщених і конденсованих похідних ксантину» дисертант обґрунтовує доцільність використання комп'ютерного прогнозування можливого спектра фармакологічної активності нових сполук на основі залежності від їх хімічної структури. Віртуальному скрінінгу були піддані 860 нових синтезованих похідних ксантину, серед яких виділено 135 сполук з можливою кардіо- та нефропротекторною активністю. Для виділених сполук характерна різнобічна фармакологічна дія на різні органи та системи організму. Вони здатні впливати на систему інтерлейкінів, адренорецептори, аденозинові та гістамінові рецептори, проявляти антиішемічну та болетамуючу дії тощо. В цьому розділі дисертант проводить деякий аналіз залежності віртуальної фармакологічної

активності від структури сполуки, вказує на можливу ціленаправленість проведення подальшого фармакологічного скрінінгу виділених субстанцій.

В **розділі 4** «Експериментальний фармакологічний скрінінг фізіологічної активності N-C₈-заміщених і конденсованих похідних ксантину» дисертант приводить дані, отримані при проведенні сліпого фармакологічного скрінінгу виділених нею, по результатам комп'ютерного прогнозу, перспективних сполук. Вивчена залежність гострої токсичності сполук від хімічної структури. Досліди проведені на мишах, ЛД₅₀ сполук знаходиться в межах 167,5-2620 мг/кг маси тіла, тобто більшість сполук малотоксичні. В цьому ж розділі наводяться дані про вивчення залежності структура-активність по інших показниках: тривалості тіопентал натрієвого сну (нейротропна активність), антигіпоксичні властивості (тривалість знаходження щурів у закритій камері), фізична працездатність тварин, антиноцицептивна та антиексудативна активності, екскреторна функція нирок. Аналізуючи приведені результати, доцільно наголосити, що всі дослідження виконані на достатній кількості піддослідних тварин, отримані дані статистично опрацьовані і в належній мірі інтерпретовані дисертанткою. Проведено аналіз залежності структура-активність по кожному з показників, показано, що в залежності від введення в структуру молекули того чи іншого замісника сполука проявляє активуючу чи інгібуючу дію, причому сила дії теж в значній мірі пов'язана з характером введеного замісника. Необхідно також підкреслити, що всі дослідження проведені в порівнянні з референтними сполуками по кожному показнику. На основі фармакологічних скрінінгових досліджень дисертант виділяє сполуку 7—бензоїлметил-8-(фурил-2)-метиламінотеофілін як найбільш перспективну для подальшого вивчення в якості можливої для лікування кардіоренального синдрому.

В якості зауваження доцільно наголосити, що не в усіх таблицях вказана кількість тварин, на яких проводились експерименти. На мою думку, забагато було використано тест-систем для фармакологічного скрінінгу. Виходячи з мети дослідження, можна було відмовитись від вивчення нейротропних та антиноцицептивних властивостей, що в меншій мірі характерно для кардіальної і нефрогенної патології. І зовсім незрозуміло для чого було вивчати гостру токсичність всіх 135 сполук. Доцільніше було б сконцентруватися на вивченні гострої токсичності сполуки-лідера, можливо на декількох видах тварин при різних шляхах уведення і попередити такі дослідження вивченню хронічної токсичності бенфураму, чому приділена увага в 5 розділі дисертації.

Розділ 5. «Дослідження специфічної активності і безпечності бенфураму як нефропротекторного засобу». Хронічну токсичність бенфураму вивчали на щурах масою 85-95 г з використанням 3 доз: ЕД₃₀ (30 мг/кг), 5 ЕД₃₀ (150 мг/кг),

10 ЕД₃₀ (300 мг/кг). Всім тваринам сполука вводилась протягом 90 діб. На протязі всього періоду реєстрували поведінкові реакції, динаміку зміни маси тіла, споживання корму, проводили лабораторні дослідження крові, функції нирок та печінки. Сполука ні в одній із вивчаємих доз на протязі всього періоду введення не визивала статистично значимих змін порівняно з контрольними тваринами, за винятком діурезу, який у піддослідних тварин на 45 і 90 добу збільшувався на 76,9-178,6 % . Однократне і 7 кратне введення бенфураму інтактним тваринам та при водно- та водно-сольових навантаженнях приводило до підвищення фільтраційної функції нирок, збільшенню екскреції креатиніну, натрію та калію, зменшенню реабсорбції їх в проксимальних та дистальних відділах нефронів, значному підвищенню добового діурезу. Нефропротекторна дія бенфураму, як показано дисертантом, в значній мірі обумовлена активацією ренін-ангіотензин-альдостеронової системи, активацією натрій-уретичного гормону та інгібуванням аденозинових рецепторів. Бенфурам підвищує вміст простагландинів ПГЕ₂, калікреїногену та калікреїну в крові піддослідних тварин, що також призводить до покращення ниркового кровообігу та підсилення діурезу. Нефропротекторна ефективність бенфураму проявилась і за умом гострої ниркової недостатності (одноразове внутрішньомязове введення 50% водного розчину гліцерину в дозі 0,8 мл на 100 г маси тіла). Нефропротекторна дія бенфураму нерідко перевищувала аналогічну дію гідрохлортиазиду. Оцінюючи в цілому даний розділ досліджень задовільно, рахую доцільним зробити деякі зауваження. По перше- при вивченні хронічної токсичності замало вивчати вплив нових хімічних сполук на кровоносну систему, нирки та печінку. В такому разі необхідно вивчати вплив сполуки на всі органи та системи. При вивченні впливу бенфураму на функціонування нирок доцільно було б використати і інші експериментальні моделі ниркової патології.

В *розділі 6.* «Вплив бенфураму на метаболічні процеси серцево-судинної системи при експериментальних патологіях». На моделях пітуїтринової та індометацинової гіпертензії у кролів бенфурам при внутрішньовенному введенні проявляв значний антигіпертензивний ефект, що супроводжувалось зниженням активності аланін амінотрансферази в міокарді та зростанням активності транскетолази в стінці аорти. Розвиток експериментальної пітуїтринової гіпертензії супроводжується підвищенням гіперхолестеринемії та порушеннями співвідношення між вільними жирними кислотами в крові і судинах. Бенфурам, по даним дисертанта, призводить до нормалізації цих показників. Антиатерогенні властивості бенфураму підтвердились і в дослідях з експериментальною гіперхолестеринемією у щурів. Виходячи з написаного дисертантом в цьому розділі, у мене напрошується запитання: яким чином дисертантка вводила бенфурам піддослідним тваринам внутрішньовенно в

фізіологічному розчині, коли раніше (розділ 3) сказано, що він розчиняється тільки в органічних розчинниках?

Розділ 7 «Вплив бенфураму на морфо-функціональний стан нирок і серця при поєднаних експериментальних нефро- та кардіопатіях». Для підтвердження гіпотези розвитку коморбідних станів при враженнях організму дисертант використала експериментальні моделі хроматокалієвої, доксорубіцинової та ізадринової патологій. Показано, що введення в організм піддослідних тварин поіменованих токсикантів призводить до розвитку патологічних змін як в серцево-судинній системі, так і в нирках, тобто приводить до розвитку коморбідних патологій. В нирках порушується фільтраційна, екскреторна та реабсорбційна функції, зменшується діурез, порушується провідна та скоротлива функції серця, мікроскопічно в нирках і міокарді – масивні альтеративні та некротичні пошкодження. Профілактичне та лікувальне введення піддослідним тваринам бенфураму в дозі 30 мг/кг маси тіла в значній мірі зменшувало негативні морфо- функціональні зміни в органах-мішенях, що наочно показано морфологічними дослідженнями, підвищувало працездатність (витривалість) тварин, хоча, практично, не призводило до збільшення відсотка їх виживання, що теж характерно для референтних препаратів, які використовувались при аналогічних дослідах. Даний розділ дисертації виконаний з натхненням, особливо морфологічні дослідження, які наочно ілюстровані численними фотографіями. В розвиток цих суджень, як на мене, доцільним було б більше уваги приділити вивченню кардіопротекторних властивостей бенфураму, не обмежуючись тільки витривалістю тварин, морфологічними змінами в серці та реєстрацією артеріального тиску.

В **розділі 8** «Узагальнення проведених досліджень» дисертантка в хронологічній послідовності викладає отримані результати, особливу увагу приділяє ефективності бенфураму при різних типах ниркової та кардіальної патологій, співставляючи їх з ефективністю референтних сполук. Приходить до висновку, що при впровадженні в практику охорони здоров'я бенфурам може бути використаним для лікування таких коморбідних станів як кардіоренальний синдром, що наразі активно обговорюється в міжнародному науковому товаристві. Бенфураму притаманні поліфункціональні фармакологічні властивості: спроможність нормалізувати водно-мінеральний та жирно-кислотний обмін в організмі, знижувати артеріальний тиск, збільшувати діурез та підвищувати витривалість, порушення яких характерні для даної патології. Обговорення викладено професійно, зауважень до нього немає.

Отримані дисертанткою результати обговорювались на багатьох наукових форумах, викладені і надруковані в численних матеріалах, з яких 25 статей у фахових наукових виданнях, 5 статей в англомовних виданнях. Основні

результати захищені 5 Патентами України на корисну модель, оформлені і опубліковані 2 інформаційні листи. Зроблені автором висновки витікають із отриманих результатів, носять конкретний характер. На основі матеріалів дисертації розроблені і опубліковані Методичні рекомендації по використанні ПАС програми для віртуальної оцінки фізіологічних властивостей нових хімічних сполук. Проводиться промислове освоєння та розробка лікарської форми бенфураму, розробляється науково-технічна документація на препарат. Зауваження по дисертації викладені мною по ходу рецензування, вони в значній мірі носять дискусійний характер і не знижують цінності отриманих даних.

Висновок

Дисертаційна робота Корнієнко В.І. «Пошук та розробка засобу для фармакологічної корекції нефро-та кардіопатії серед N-C₈-заміщених і конденсованих похідних ксантину» є самостійною, закінченою науковою працею, в якій сформульовано нову наукову проблему - лікування коморбідної (поєднаної) патології, намічені можливі шляхи та зроблена спроба пошуку лікарських засобів для лікування таких станів. За актуальністю, об'ємом проведених досліджень, використанням різних моделей експериментальних патологій та сучасних методів досліджень, новизною отриманих даних дисертація відповідає п.10 Порядку присудження наукових ступенів, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. №567, щодо дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук, а дисертант заслуговує присвоєння їй пошукового ступеня за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Завідуючий відділу фармакології серцево-судинних засобів ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»
заслужений діяч науки і техніки України
доктор мед. наук, професор

М.А. Мохорт

