

## ВІДЗИВ

офіційного опонента професора Горчакової Надії Олександрівни на дисертаційну роботу Корнієнко Валентини Іванівни «Пошук та розробка засобу для фармакологічної корекції нефро- та кардіопатій серед N-C<sub>8</sub>-заміщених і конденсованих похідних ксантину», представленій до Спеціалізованої вченої ради Д. 26.560.01 при ДУ «Інститут фармакології і токсикології НАМН України» на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

**Актуальність теми.** Частота виникнення коморбідних станів сприяє дослідженню патогенезу цих патологій, пошуку шляхів їх корекції та є важливим завданням лікарів, фармакологів, патологічних фізіологів та фармацевтів. Відомо, що нефро- та кардіопатії є надзвичайно поширеними патологічними станами. Відсутність єдиних уявлень про патофізіологічні механізми кардіоренальних взаємодій в клінічних проявах створює труднощі для своєчасної діагностики та лікування. При патології нирок і серця простежується паралель між формуванням коронарного атеросклерозу і гломерулосклерозу з підвищенням ризику ниркових і серцево-судинних ускладнень. Терапевтичні заходи, спрямовані на профілактику і лікування захворювань нирок і серця, обмежені, а розробка нових лікарських препаратів є галуззю інтенсивного вивчення. Останні дослідження виявили значення сигнальної молекули аденозина в захисті серця і нирок від ішемії. Механізм дії ксантинів зумовлений пригніченням фермента фосфодіестерази, накопиченням внутрішньоклітинного аденозинмонофосфату, прискоренням процесів глікогенолізу, стимулюванням метаболічних процесів у серці та нирках. Враховуючи вище викладене та результати комп'ютерного прогнозування фармакологічної активності вперше синтезованих N-C<sub>8</sub>-заміщених і конденсованих похідних ксантину актуальним є вивчення та експериментальне обґрунтування доцільності проведення фармакологічного скринінгу цих сполук з метою пошуку більш ефективних і більш безпечних фармакологічних речовин для їх застосування при поєднаній патології – захворюваннях нирок та ССС. Дисертація Корнієнко В.І. «Пошук та розробка засобу для фармакологічної корекції нефро- та кардіопатій серед N-C<sub>8</sub>-заміщених і конденсованих похідних ксантину» є актуальною та своєчасною, тому що присвячена пошуку та фармакологічному вивченню субстанції сполуки 3-7-бензоілметил-8-(фуріл-2)-метиламінотеофілін, яка володіє нефропротекторною дією, здатна нормалізувати водно-електролітний обмін,

кисотно-лужну рівновагу сечі, зменшувати гіперпротеїнемію та артеріальний тиск і може бути корисною для корекції нефро- і кардіопатії.

**Ступінь обґрунтованості наукових питань, висновків, рекомендацій, сформованих в дисертації, достовірність, новизна.** Робота виконана на кафедрі фармакології і токсикології Харківської державної зооветеринарної академії у відповідності до плану науково-дослідних робіт Запорізького державного медичного університету «Фармакологічне дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування в медичній практиці». Дисертація викладена на 316 сторінках комп'ютерного друку, складається зі вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 5 розділів власних досліджень, розділу, присвяченого аналізу і узагальненню результатів дослідження, висновків та списку посилань, який містить 398 джерел, серед яких 134 – кирилицею, 264 – латиницею. Дисертація ілюстрована 63 таблицями, 8 рисунками, 45 фотографіями.

Огляд літератури «Медикаметозна корекція порушень функції нирок та серцево-судинної системи» складається з 4 підрозділів: «Взаємозв'язок патологічних реакцій при порушеннях нирок та серцево-судинної системи. Біологічні та медичні аспекти», «Патогенез нефро- та кардіопатій.», «Корекція гемодинамічних показників для відновлення функцій нирок та серця», «Фармакологічні властивості похідних ксантину та їх перспективи застосування для корекції нефро- та кардіопатій».

Робота виконана на хорошому методичному рівні з застосуванням комп'ютерного прогнозу, фармакологічних, біохімічних, патофізіологічних, токсикологічних методів дослідження.

Розділ 3 присвячений комп'ютерному прогнозу видів біологічної активності N-C8-заміщених і конденсованих похідних ксантину та їх амонійних солей, після проведення якого встановили наявність у 6 сполук найбільшого коефіцієнту діуретичної, гіпотензивної, метаболічної активності та низькі параметри токсичності, у 9 сполук визначена антигіпертензивна, спазмолітична, папавериноподібна дія, низькі параметри токсичності, для 28 сполук встановлена знеболююча активність, для 17 сполук – протиастматична активність, для 25 сполук – протипухлинна активність, для 14 – периферична, вазодилататорна активність, для 16 – протизапальна активність. Встановили, що похідні N-C8-заміщених і конденсованих похідних ксантину і його конденсованих систем є перспективною групою сполук для подальшого синтезу і пошуку нових фармакологічно активних речовин з діуретичною, гіпотензивною та іншими видами властивостей. На основі комп'ютерного

прогнозу, за показниками біологічної активності, гострої і хронічної токсичності виділена сполука-лідер – бенфурам за умов коморбідної патології.

Розділ 4 присвячений дослідженню залежності фармакологічної активності від хімічної структури в ряду N-C8-заміщених і конденсованих похідних ксантину та їх амонійних солей. Визначення гострої токсичності 135-ти N-C8-заміщених і конденсованих похідних ксантину та їх амонієвих солей при внутрішньоочеревинному введенні показало, що за класифікацією К.К. Сидорова вони належать до IV-V класів токсичності, сполука 10 в 2,18 разів перевищувала депримуєчу дію аміназину. Сполука 104 проявляла антагоністичну дію до барбітуратів, зменшуючи тривалість наркотичного сну. Найбільший антигіпоксичний ефект виявлений у сполуки 34, що в дозі 8,4 мг/кг збільшувала тривалість життя щурів під час перебування їх у закритій герметичній камері на 81,9% та на 18,5% перевищувала антигіпоксичний ефект мексидолу. Сполука 52 підвищувала працездатність тварин до фізичних навантажень на 99,5%, а сполука 27 викликала депримуєчу дію, зменшуючи фізичну витривалість до навантажень. Анальгетичний ефект виявлений у сполуки 41, що зменшила збудливість вісцеральних рецепторів на 53,5% і проявила тенденцію наближення до дії диклофенаку натрію. Сполука 99 викликає пригнічення флогогенного набряку лапки у щурів на 48,3% і є еквівалентною з диклофенаком натрію. найбільш виражену діуретичну активність виявила сполука 3, яка перевищувала дію гідрохлортіазиду в 2,18 рази, володіла антигіпоксичною, протизапальною дією, підвищувала фізичну працездатність, була відібрана для вивчення впливу на метаболічні процеси серцево-судинної системи та функцію серцево-судинної системи, нирок.

Розділ 5 розкриває дослідження специфічної активності і безпечності бенфураму як нефропротекторного засобу. Встановлено, що бенфурам в дозі 30 мг/кг ( $ED_{50}$ ) збільшує добовий діурез у 2,77 раза, екскреційну концентрацію іонів натрію у 3,05 раза, викликає зростання концентрації іонів калію у 1,07 раза та збільшує екскрецію його з сечею на 6,7%, посилює екскрецію креатиніну на 18%, що свідчить про збільшення клубочкової фільтрації. При водному навантаженні бенфурам викликає у щурів збільшення діурезу на 196,4% що на 107,1% перевищує ефект гідрохлортіазиду. За сольового навантаження бенфурам збільшував екскрецію сечі на 218,5%, креатиніну на 13,7%, натрію на 59,4%, калію на 12,1%. Бенфурам протягом 14 днів збільшував діурез, екскрецію з сечею натрію, підвищував виведення ендogenous креатиніну, зменшував реабсорбцію води, підвищував фільтраційний заряд, понижував реабсорбцію натрію та покращував фільтраційну функцію нирок. бенфурам та еналаприл володіють діуретичним і натрійуретичним ефектами. Бенфурам знижує як проксимальний, так і

дистальний транспорт іонів натрію, на відміну від еналаприлу, що впливає менше на проксимальний транспорт. Бенфурам у інтактних щурів підвищує вміст простагландинів в плазмі крові на 18,1%, при сольовому навантаженні на 29,9%, при водному навантаженні на 31%, що може бути свідченням діуретичної дії. Бенфурам збільшує вміст кінінів в плазмі крові, які виявляють натрійуретичні і діуретичні властивості, що є одним з механізмів збільшення ниркового кровообігу і клубочкової фільтрації. Бенфурам є агоністом ниркових рецепторів дофаміну, оскільки викликає ниркові ефекти, властиві дофаміну, про що свідчить антагоністичне відношення з мотиліумом за умов блокади дофамінових рецепторів. Під впливом бенфураму на фоні збільшення позаклітинної рідини мало місце зростання натрійуретичної активності плазми крові на 125,7%, що підтверджує збільшення діурезу. Бенфурам при введенні протягом 14 діб викликає вірогідне зменшення об'єму внутрішньосудинної рідини на 14,2%, вмісту креатиніну на 6,4%, концентрацію іонів натрію в плазмі крові на 16,3% і калію на 5,7%, що має важливе значення для лікування набряків. Бенфурам завдяки збільшенню швидкості клубочкової фільтрації, посилює сечовиділення, зменшує об'єм внутрішньосудинної рідини і концентрації електролітів у плазмі крові і проявляє салуретичний ефект. Бенфурам більшою мірою, ніж гідрохлортіазид, при гострому нефриті впливає на діурез, екскрецію натрію, фільтраційну функцію нирок, починаючи з 1-го тижня лікування.

В розділі 6 описується вплив бенфураму на метаболічні процеси серцево-судинної системи при експериментальних патологіях. При пітуїтриновій гіпертензії бенфурам протягом 20 днів нормалізує артеріальний тиск до вихідного стану, перевищуючи ефект еуфіліну. При індометациновій гіпертензії протягом 20 днів бенфурам також перевищує гіпотензивну дію еуфіліну, а саме більше понижує САТ. При одноразовому внутрішньошлунковому введенні щурам з індометацинковою гіпертензією бенфурам виявляє суттєвий антигіпертензивний, незначний протиаритмічний ефекти, за вираженістю і тривалістю гіпотензивної дії, перевищуючи дію еуфіліну. Бенфурам при пітуїтриновій гіпертензії понижує в печінці активність фруктозо-1,6-дифосфат альдолази, лактат дегідрогенази, аланінамінотрансферази. В стінці аорти при його введенні понижується активність ЛДГ, рівень холестерину в сироватці крові. В сироватці крові знижується рівень натрію, підвищується калію. В печінці і серці також зменшується рівень натрію. При експериментальній гіперхолестеринемії у щурів під дією бенфураму і кислоти нікотинової зменшується рівень загального холестерину, холестерину ліпопротеїдів дуже низької щільності, триацилгліцеролів, загальних ліпідів, збільшується рівень холестерину ліпопротеїдів високої щільності.

Розділ 7 присвячений впливу бенфураму на морфофункціональний стан нирок, серця за умов поєднаної експериментальної нефро-та кардіопатії. На моделях хромат калієвої, доксорубіцинової нефропатії малих змін, ізадринової, доксорубіцинової кардіо-нефропатії виявлено нефропротекторну та кардіопротекторну дію бенфураму при його застосуванні з профілактичною та лікувальною метою. Бенфурам запобігає проявам ушкоджувальної нефротоксичної дії хромату калію, доксорубіцину, ізадрину, зменшуючи при цьому патологічні зміни в морфоструктурі і функціональному стані нирок і серця. Бенфураму притаманна відсутність ульцерогенної дії на слизову оболонку шлунка і дванадцятипалої кишки. Отримані в цьому розділі дані є свідомством доцільності застосування бенфурама при поєднаній патологічній нефро- та кардіопатії.

В розділі 8, де міститься аналіз та узагальнення отриманих результатів, надані пояснення щодо визначення головних аспектів фармакодинаміки бенфураму.

**Наукова новизна роботи.** Уперше на основі комп'ютерного прогнозу за програмою PASS визначена комплексна біологічна активність синтезованих N-C<sub>8</sub>-заміщених і конденсованих похідних ксантину та їх амонієвих солей. Банк даних прогнозу був доповнений результатами спектру біологічної активності та безпечності за показниками гострої та хронічної токсичності, що дозволило виявити сполуку-лідера – бенфурам, за умов коморбідної патології, в цьому полягає принципово новий методологічний підхід до комп'ютерного прогнозування. Уперше доведена діуретична та нефропротекторна активність бенфурама, який нормалізує порушення кислотно-лужної рівноваги сечі та водно-електролітного обміну за умов артеріальної гіпертензії (АГ). Виявлено, що діуретична дія бенфурама зумовлена зменшенням натрійзатримуючої дії мінералкортикоїдів. Уперше на моделі пітуїтринової АГ виявлені метаболічні зміни обміну речовин, які часто співіснують з патологією серцево-судинної системи і нирок, та встановлені перспективи фармакологічної корекції даних порушень бенфурамом. Доведено, що бенфурам за умов тривалого введення виявляє виражений діуретичний і натрійуретичний ефекти, зменшує реабсорбцію води, натрію, підвищує фільтраційний заряд, покращує нирковий кровообіг та фільтраційну функцію нирок. Отримані результати стали теоретичним обґрунтуванням доцільності застосування бенфурама з сечогінною дією при патології серцево-судинної системи та нирок, як нефропротекторного та кардіопротекторного засобу, який знижує АТ, впливає на ліпідний обмін, знижуючи рівень загального холестерину, загальних ліпідів, тригліцеридів в печінці, стінці аорти, знижує коефіцієнт атерогенності та підвищує активність ЛПВЩ, що сприяє захисній активності від атеросклеротичних уражень серцевих та ниркових судин, також знижує

активність гліколітичних ферментів, що ймовірно пов'язано зі зниженням витрат енергії гепатоцитів на синтез атерогенних ліпідів і утилізацію їх в пентозофосфатному циклі. Бенфурам впливає на дофамінові рецептори, що зумовлює його нейропротекторну та радіопротекторну дію, яку можна пояснити модуляцією активності дофамінових рецепторів.

Уперше встановлено, що бенфурам впливає на натрійуретичний гормон, який розслаблює гладенькі м'язи нирок, судин серця, знижує АТ, блокує альдостеронові рецептори, покращує нирковий кровообіг, підвищує синтез простагландину E2. Бенфурам активує калікреїн-кінінову систему, що зумовлено його дією на гладенькі м'язи судин серця та нирок. Бенфурам зменшує об'єм внутрішньої судинної рідини, про що свідчить його салуретичний ефект, та менше виводить калію порівняно з гідрохлортіазидом, що є корисним при лікуванні діуретинами серцево-судинної патології та порушень водно-електролітного обміну. Комбінована нефро- та кардіотропна активність бенфураму доведена при морфофункціональних дослідженнях на тлі різних патологічних моделей нефро- та кардіопатій: хромат калієвої, нефропатії малих змін, доксорубіцинової, ізадринової патології.

Дослідження свідчили про підвищення активації клітинної регенерації в зонах пошкодження серця, нирок, та відновлення морфоструктури цих органів. Одержані результати дозволяють окреслити шлях для фармакологічної корекції поєднаної патології нефро- та кардіопатій за допомогою бенфураму.

Новизна проведених досліджень захищена п'ятьма патентами України.

**Практичне значення одержаних результатів.** Одержані результати комп'ютерного прогнозу за програмою PASS N-C<sub>8</sub>-заміщених і конденсованих похідних ксантину та їх амонієвих солей стали обґрунтуванням доцільності проведення досліджень їх фармакологічної активності та встановлення залежності «структура-активність». Сукупність отриманих даних дозволила розширити уявлення про патологічні ланки порушень функціонування нирок і серцево-судинної системи як поєднаної патології має важливе значення для розвитку сучасних уявлень про патогенетичні ланки порушень функціонування нирок і серцево-судинної системи, як поєднаної патології. Експериментально обґрунтована можливість використання бенфураму з нефропротекторною і гіпотензивною дією для нормалізації водно-електролітного обміну, кислотно-лужної рівноваги сечі, метаболічних процесів в нирках, серці, що сприяє нормалізації АТ при серцево-судинних розладах в умовах нефро- та кардіопатії. Отримані дані є фрагментом до клінічного вивчення бенфураму. Експериментально доведена доцільність клінічної апробації застосування бенфурама з метою з'ясування питання щодо його введення до схем лікування

порушень функції нирок і серцево-судинної системи у гострий період, як засобу, який впливає на діяльність серцево-судинної системи, виявляє сечогінну дію та має нефропротекторні властивості. На підприємстві «Валартін Фарма» проводиться розробка твердої лікарської форми як потенційного лікарського засобу «Бенфурам», який проявляє нейропротекторну та кардіопротекторну дію. В умовах підприємства апробована технологічна схема виробництва бенфураму і розроблена аналітична нормативна документація та методи контролю якості на пропонований лікарський засіб. На підставі отриманих результатів спільно зі співробітниками Національного фармацевтичного університету та Запорізького державного медичного університету розроблені методичні рекомендації щодо методологічного обґрунтування використання комп'ютерного прогнозу біологічної активності вперше синтезованих сполук для проведення фармакологічного скринінгу. Результати проведених досліджень впроваджені у науково-педагогічну діяльність Харківської державної зооветеринарної академії, Запорізького державного медичного університету, Національного фармацевтичного університету, Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.

**Повнота викладення дисертації в опублікованих працях.** За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 62 роботи, з них 25 статей у фахових наукових виданнях, є 5 патентів на корисну модель, 2 інформаційних листи, 1 методичні рекомендації, в тому числі 6 статей у англомовних виданнях, 12 тез доповідей у матеріалах з'їздів, міжнародних конгресів, науково-практичних конференцій. Робота добре апробована.

**Недоліки дисертації і автореферату щодо їх змісту та оформлення.** Незважаючи на новизну, практичну значимість, достатній методичний рівень, об'єм досліджень, при роботі з дисертацією та авторефератом виникли зауваження, побажання і запитання, на які хотілося б отримати відповідь дисертанта.

1. Підрозділи 1.1, 1.2 можна об'єднати, тому, що вони близькі за змістом.
2. Розділ 8 треба назвати «Аналіз і узагальнення результатів дослідження».
3. Описуючи наукову новизну доцільно спочатку вказати встановлені Вами фізіологічні зміни далі біохімічні та морфофункціональні, які Ви дослідили при нефро- і кардіопатіях та під впливом бенфураму.
4. У другому висновку необхідно зазначити, до якого класу токсичності належить бенфурам.
5. В роботі часто зустрічаються помарки, русизми та стилістичні помилки.

Оскільки в «Аналізі і узагальненні отриманих даних» не має обговорення деяких положень, хотілося б почути думку дисертанта з приводу:

1. Вкажіть принцип вибору референтних препаратів та їх дозування при визначенні різних видів активності бенфураму.
2. Які механізми впливу бенфураму на виведення калію за умов активації альдостеронових рецепторів?
3. На яке джерело Ви посилаєтесь щодо здатності дофаміну пригнічувати ренін-ангіотензит-альдостеронову систему та антидіуретичний гормон.
4. В яких органах Ви проводили патоморфологічне дослідження при встановленні гострої токсичності сполук?

Стосовно змісту дисертації, зауваження та питання не змінили значення роботи. Автореферат оформлено вірно, висвітлено основні положення дисертаційної роботи, але є опечатки, стилістичні і смислові помилки.

**Відповідність дисертації встановленим вимогам.** Дисертаційна робота Корнієнко Валентини Іванівни «Пошук та розробка засобу для фармакологічної корекції нефро- та кардіопатій серед N-C8-заміщених і конденсованих похідних ксантину» являє закінчене дослідження, виконана на достатньому методичному рівні, містить новий напрямок досліджень, а саме розробку ефективного засобу для лікування нефро- та кардіопатій серед N-C8-заміщених і конденсованих похідних ксантину. Робота має практичне значення, тому що експериментально доводить доцільність проведення клінічної апробації препарату бенфураму після закінчення необхідних досліджень та документації для технологічного процесу виробництва. За актуальністю обраної теми, повнотою представлення, методичним рівнем науковою новизною і практичною значимістю дисертаційна робота Корнієнко В.І. відповідає вимогам п.10 Постанови Кабінету Міністрів України №567 від 24.07.2013 р. «Про порядок присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника» на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія, а здобувач заслуговує звання доктора біологічних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Професор кафедри фармакології

Національного медичного

університету імені О.О. Богомольця

д.м.н., професор



*Горчакова Н.О.*

Горчакова Н.О.