

ВІДЗИВ

офіційного опонента доктора медичних наук, професора
Волощук Наталії Іванівни, завідувача кафедри фармакології Вінницького
національного медичного університету імені М.І. Пирогова МОЗ України на
дисертаційну роботу *Попова Олексія Сергійовича* на тему:

**«ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ КОМБІНОВАНОГО
НЕСТЕРОЇДНОГО ПРОТИЗАПАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ «ДИКЛОКОР»**

представленої до Спеціалізованої Ради Д 26.550.01 ДУ «Інститут фармакології
та токсикології НАМН України» на здобуття наукового ступеня кандидата
медичних наук за спеціальністю 14.03.05. – фармакологія

Актуальність обраної теми

Основним завданням сучасної фармакологічної науки, як відомо, є розробка та створення нових лікарських засобів, проте не менш важливим напрямком є досконале вивчення особливостей вже існуючих лікарських засобів та раціонального їх комбінування з метою посилення ефективності та зменшення токсичності. Ця парадигма лежить в основі раціональної комбінованої фармакотерапії захворювань, які супроводжуються запальним та больовим синдромом. Проблема фармакологічного контролю таких захворювань залишається актуальним практичним та науково-теоретичним завданням. Це пояснюється в першу чергу, широкою розповсюдженістю цих захворювань серед населення розвинутих країн. Вони займають друге місце після гострих респіраторних захворювань в якості причини непрацездатності населення. Вибір ефективної та безпечної фармакотерапії ревматичних та інших захворювань опорно-рухового апарату, незважаючи на наявність потужних методів сучасної діагностики і лікування, представляє одну з найбільш складних завдань сучасної клінічної медицини. Хронічний больовий синдром є причиною для тривалого прийому НПЗЗ, крім того, переважна більшість споживачів цих засобів – люди похилого та старого віку, як правило із наявністю коморбідної патології. Все це значно збільшує ризик ускладнень

фармакотерапії, тому препарати групи НПЗЗ є лідерами не тільки на фармацевтичному ринку продаж, але і за частотою розвитку побічних реакцій. Незважаючи на накопичений багаторічний досвід практичного застосування НПЗЗ, проблема фармакотерапії больового синдрому досі є предметом наукового пошуку.

Традиційні препарати НПЗЗ налічують велику кількість лікарських засобів як брендових так і генеричних, а також їх комбінацій, що може свідчити як про актуальність цієї проблеми, так і про відсутність дійсно дієвих препаратів. Тому абсолютно зрозуміло, що вибір теми дисертаційного дослідження О.С. Попова є сучасним та актуальним.

Дисертаційна робота О.С.Попова присвячена доклінічному вивченню нового оригінального вітчизняного нестероїдного протизапального засобу на основі комбінації диклофенаку та флавоноїда природного походження кверцетину, який у формі капсул під назвою «Диклокор». Зокрема, вивчались ті його аспекти, які зможуть стати експериментальним підґрунтям для подальших досліджень його як засобу оптимізації лікування запально-деструктивних та дегенеративно-дистрофічних захворювань суглобів.

Досягнення мети автор пропонує шляхом виконання низки із 6 завдань, кожне з яких сформульовано чітко та логічно.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами

Робота виконана в рамках науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету, затвердженим МОЗ України, і є частиною НДР «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів», № держреєстрації 0114U000956, в яких автор є співвиконавцем.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність і новизна, повнота викладення в опублікованих працях

Спектр методичних підходів, які автор використав в роботі (фармакологічні, біологічні, біохімічні, гістоморфологічні, імуногістохімічні методи дослідження та методи математичної статистики) є цілком достатнім, дослідження виконані в сертифікованій лабораторії НФаУ, на сучасному обладнанні із залученням великої кількості (656) лабораторних тварин. Отримані результати підлягали адекватній статистичній обробці, що дозволило робити цілком обґрунтовані висновки.

Дисертаційне дослідження є самостійною науковою працею, про що свідчить особистий внесок автора в її виконання.

За результатами дослідження автором опубліковано 17 наукових праць: 8 статей у фахових виданнях, рекомендованих МОН України (з них 3 зарубіжні), 8 тез доповідей, видано 1 інформаційний лист МОЗ України.

Автореферат відповідає змісту дисертаційної роботи.

Наукова новизна дисертаційної роботи

Робота характеризується беззаперечною новизною. Зокрема, автор запропонував новий ефективний напрямок комбінації нестероїдних протизапальних засобів, на прикладі диклофенаку, разом із природним флавоноїдним засобом із плюрипотентними властивостями, на прикладі кверцетину. В роботі проведене комплексне багаторівневе дослідження фармакологічної активності та токсичності такого лікарського засобу (диклокор), визначено механізми його дії, а також обґрунтована доцільність його застосування як засобу для лікування запальних та дегенеративних захворювань суглобів.

Теоретичне і практичне значення результатів дослідження

На основі отриманих даних препарат «диклокор» у капсулах впроваджений у виробничий процес на ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ» та проведено I фазу клінічних досліджень цього препарату «Клінічне випробування з вивчення фармакокінетики та переносимості різних доз лікарського препарату «Диклокор», капсули, виробництва ПАТ НВЦ

«Борщагівський ХФЗ» за участю здорових добровольців», наказ МОЗ від 31.03.2016 р. № 287).

Результати роботи довели, що підвищення ефективності протизапальної, аналгетичної та хондропротекторної дії ДН, а також його безпеки при поєднанні з Кв, дозволяє знизити ефективну дозу цього НПЗП у складі комбінації без втрати сили лікувального ефекту.

Отримані результати свідчать про позитивний вплив дослідної комбінації на перебіг експериментальних моделей ревматоїдного артриту та остеоартрозу, що обумовлює доцільність її упровадження у лікувальну практику для оптимізації лікування запально-деструктивних та дегенеративно-дистрофічних захворювань суглобів.

Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені: на науковій конференції молодих вчених та студентів НФаУ (Харків, 2015), 3-й Міжнародній науковій конференції молодих вчених та студентів «Перспективи розвитку біології, медицини і фармації» (Шимкент, 2015); II Міжнародній науково-практичній Інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення ЛП різної направленості дії» (Харків, 2016); міжвузівській конференції молодих вчених та студентів «Медицина третього тисячоліття» (Харків, 2016); XXXIII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії призначення лікарських засобів» (Харків, 2016); XXIII Міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 2016); 7th World Congress on Bioavailability & Bioequivalence: BA/BE Studies Summit (Атланта, США, 2016); науково-практичній конференції «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (Харків, 2016).

Оцінка змісту дисертації, її завершеність у цілому і ідентичність змісту автореферату та основних положень дисертації

Оформлення та структура дисертації відповідають чинним вимогам до кандидатських дисертацій. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів досліджень, шести розділів власних

досліджень, аналізу й узагальнення результатів досліджень, висновків і списку використаних джерел. Загальний обсяг дисертації – 252 сторінки друкованого тексту, з яких залікового тексту – 169 сторінок; робота ілюстрована 47 таблицями і 103 рисунками, включає 305 джерел літератури, з них 116 кирилицею, 189 латиницею. Робота відповідає шифру спеціальності 14.03.05 – фармакологія.

Вступ містить всі необхідні складові. В ньому автор аргументовано і послідовно висвітлює стан проблеми, формулює мету і завдання дослідження, обґрунтовує необхідність його проведення. Цілком зрозуміло та лаконічно окреслений предмет та об'єкт дослідження, визначено наукову новизну та практичну значимість, охарактеризовано зв'язок роботи з науковими планами НФАУ, а також зазначено особистий внесок здобувача, форми оприлюднення результатів дослідження, кількість публікацій.

Огляд літератури «Сучасні уявлення про фармакологічну корекцію запального процесу (огляд літератури)» викладений на 25 сторінках, містить 3 підрозділи, в яких автор узагальнює існуючі уявлення про фармакологію нестероїдних протизапальних препаратів, особливості фармакодинамічних властивостей природних поліфенолів, зокрема, флавоноїду кверцетину, а також демонструє сучасний стан вирішення проблеми розробки та створення комбінованого препарату на основі диклофенаку натрію та кверцетину. Розділ написаний гарною мовою, містить достатню кількість посилань на вітчизняні та зарубіжні літературні джерела, логічно та аргументовано обґрунтовує доцільність подальших досліджень.

Розділ 2 «Матеріали та методи дослідження», має обсяг 18 сторінок. В ньому автор детально описує основний об'єкт дослідження – капсули «Диклокор» та препарати порівняння – диклофенак натрію та кверцетин із обґрунтуванням їх дозування та режимів введення, наводить розподіл тварин згідно основних етапів дослідження. Також наведено схему експерименту, детально описано методики визначення основних параметрів гострої

токсичності досліджуваного препарату, експериментальні методи до встановлення протизапальної, аналгетичної, антипроліферативної активності диклофкору, а також профілю його безпеки (ульцерогенність, хондротоксичність тощо). Цінним є те, що класичні фармакологічні методи дослідження у даній роботі продовжуються та підкріплюються дослідженнями на високому сучасному рівні з використанням біохімічних, гістоморфологічних, імуногістохімічних методів. Отримані результати представлені і підкріплені статистичним аналізом, на основі якого в роботі побудовано таблиці і рисунки-діаграми, які обґрунтовують описані в дисертаційній роботі положення і висновки.

Проведені дослідження відповідають етичним і морально-правовим вимогам згідно чинних нормативних документів. Таким чином, дисертант застосував різноманітні методики, які можна характеризувати як сучасні, загальновизнані та такі, що є адекватними меті і завданням дисертаційного дослідження.

Розділ 3. «Дослідження гострої токсичності, середньої ефективної дози та ульцерогенних властивостей препарату "Диклокор" в капсулах» займає 21 сторінку, включає 3 підрозділи, зокрема - дослідження гострої токсичності нового лікарського засобу, визначення середньої ефективної дози на моделі карагенінового запалення у щурів та дослідження ульцерогенних властивостей капсул «Диклокор» при пероральному введенні. В цьому розділі автор визначає токсикометричні параметри нового лікарського засобу, визначає широту терапевтичної дії, індекс переносимості, і встановлює, що додавання кверцетину суттєво зменшує токсичність та ульцерогенність диклофенаку натрію і водночас, підвищує його ефективність. За даними автора, Диклокор належить до класу малотоксичних препаратів згідно із загальноприйнятою класифікацією К. К. Сидорова, оскільки його LD_{50} становить $952,5 \pm 45,2$ мг/кг для щурів при внутрішньошлунковому застосуванні. Середня протизапальна ефективна доза Диклокору становить $17,8 \pm 1,9$ мг/кг за сумою діючих речовин.

Розділ ілюстровано 14 таблицями та 4 рисунками. Наприкінці наведено публікації, в який висвітлено матеріали цього розділу.

Розділ 4. «Поглиблене дослідження антиексудативних властивостей препарату «Диклокор» у капсулах». В цьому розділі дисертант на 16 сторінках наводить результати вивчення антиексудативних властивостей капсул «Диклокор» на моделях асептичного запалення, викликаного різними флогогенами (серотоніном, карагеніном, зимозаном, гістаміном, простагландинами). Встановлено інгібувальну дію диклоктору на розвиток запальної реакції, обумовленої патофізіологічним впливом практично всього відомого спектра медіаторів запалення, що зумовлено антипростагландиною дією диклофенаку та антиліпоксигеназною активністю кверцетину, що дає змогу автору стверджувати, що диклокор має комплексний механізм дії, що обумовлений синергічним впливом монокомпонентів на протизапальні властивості складових препарату, що реалізується шляхом адитивної дії. Таким чином Диклокор може бути рекомендований як перспективний антифлогістик з комплексним впливом на перебіг запально-деструктивних процесів різної етіології, докази чого автор наводить у наступних розділах роботи. Результати розділу достатньо представлені в 6 публікаціях автора.

Розділ 5. «Дослідження антиальтеративної та антипроліферативної дії препарату «Диклокор» у капсулах на моделі скаріфікованих ватної гранульоми». Цей розділ займає обсяг 9 сторінок, містить 2 підрозділи, ілюстрований 2 рисунками та 1 таблицею. Результати свідчать, що Диклокор сприяє прискоренню швидкості загоєння ран, зменшенню площі ран та виявляє вірогідно вищі показники антиальтеративної активності в порівнянні з кверцетином і диклофенаком. Виявлено також антипроліферативної активності досліджуваного препарату, який був незначно вираженим. Ця властивість є позитивною при лікуванні ревматоїдного артрити та негативною при лікуванні артрозних порушень. Завдяки модифікувальному впливу кверцетину на антифлогістичний потенціал диклофенаку натрію передбачається позитивна

закономірність у лікуванні як проліферативних, так і деструктивних за перебігом захворювань. Результати цієї частини роботи знайшли відображення в фаховій статті, яка рекомендована МОН України.

В розділі 6 *«Дослідження аналгетичних властивостей препарату «Диклокор» у капсулах»* О.С. Попов показує, що Диклокор як при одноразовому, так і повторному введенні має виразну аналгетичну дію на перебіг індукованої та спонтанної больової реакції у тварин, за ступенем якої вірогідно (в 3-5 разів) перевершує активність диклофенаку. Препарат «Диклокор» у капсулах можна розглядати як перспективний засіб для корекції больового синдрому у хворих із запально-деструктивними та дегенеративно-дистрофічними захворюваннями суглобів. Цей розділ займає 8 сторінок, включає 2 підрозділи та містить 4 таблиці і 1 рисунок.

Розділ 7. «Дослідження впливу препарату «Диклокор» у капсулах на перебіг колаген-індукованого артриту у щурів». Цей розділ становить 32 сторінки складається із 2 підрозділів, присвячених дослідженню впливу Диклокору на клініко-біохімічні показники щурів із колаген-індукованим артритом та морфологічному дослідженню впливу Диклокору на перебіг колаген-індукованого артриту. Цей розділ вміщує 6 таблиць, а також 31 рисунок морфологічних змін в ушкоджених суглобах. В ньому автор демонструє клініко-біохімічні та морфоструктурні зміни в суглобах на тлі монотерапії компонентами диклокору та досліджуваним комбінованим засобом. Встановлено, що комбінований НПЗЗ виявляє сприятливий вплив на показники обміну хрящової та кісткової тканин на тлі розвитку аутоімунного артриту. Диклокор також виявляє позитивний вплив на перебіг аутоімунного артриту, що підтверджено нормалізацією клініко-біохімічних показників, динаміки вмісту ейкозаноїдів у сироватці крові, при цьому досліджуваний комплексний препарат не поступається диклофенаку натрію, а за деякими показниками навіть перевищує його активність. Під впливом Диклокору рівень простагландину E_2 знижувався в 1,4 разу; простагландину I_2 – в 1,1 разу;

тромбоксану B_2 – в 1,9 разу, лейкотриєну B_4 – в 1,2 разу. Також зазначена дія значно перевершувала вплив кверцетину на досліджувані зміни у суглобах.

Дисертант встановив, що Диклор чинить позитивний вплив на перебіг аутоімунного артрити, що підтверджено нормалізацією клініко-біохімічних показників, динаміки вмісту ейкозаноїдів у сироватці крові, не поступаючись при цьому, а за деякими показниками навіть перевищуючи активність диклофенаку натрію. За здатністю нормалізувати морфологічні зміни у суглобах щурів із колаген-індукованим артритом, Диклор, співставлявся з диклофенаком натрію та переважав кверцетин, а саме: нівелював прояви деструкція хряща, суттєво зменшував гіперплазію покривних тканин. Водночас під впливом Диклору спостерігались залишкові явища в синовіальних оболонках, під впливом диклофенаку натрію – в періартикулярних тканинах. Все це дозволяє зробити висновки про сумісне застосування диклофенаку натрію з флавоноїдом кверцетином у складі Диклору сприяє модифікації впливу НПЗП на процеси метаболізму суглобового хряща та є підґрунтям для подальших досліджень протизапальних і хондропротекторних властивостей Диклору на інших моделях експериментального запалення.

Розділ 8. «Дослідження хондропротекторних властивостей капсул «Диклор» на моделі системного стероїдного артрозу у щурів». Цей значний за обсягом розділ (61 сторінка, 4 підрозділи) вміщує також 6 таблиць та 61 рисунок. Він присвячений дослідженню хондротропних властивостей Диклору, а саме: вивченню його впливу на клініко-біохімічні показники, гістоморфологічну будову суглобових структур, апоптоз хондроцитів та ультраструктуру хряща щурів з системним стероїдним артрозом. В ньому клініко-біохімічні та морфологічні дослідження доповнюються аналізом процесів апоптозу хондроцитів та ультраструктурних змін в клітинах суглобів без лікування та за умов лікувально-профілактичного введення диклофенаку, кверцетину та диклору. Встановлено помірну хондропротекторну властивість Диклору, про що доказово свідчить нормалізація клініко-біохімічних показників та позитивна динаміка морфо- і ультраструктури тканин суглобів за

зщазначених умов експерименту. В основі механізму хондропротекторної дії Диклокору лежить здатність протидіяти процесам апоптозу хондроцитів, що виявляється у зменшенні кількості TUNEL-позитивних апоптозних клітин. За ступенем хондропротекторного впливу Диклокор не поступається кверцетину і вірогідно перевершує диклофенак натрію.

Аналіз та узагальнення результатів 16 сторінок. В ньому автор підводить підсумок представлених в роботі результатів дослідження, докладно і доказово пояснюючи найбільш важливі факти і положення. Слід підкреслити комплексний підхід, який було обрано автором для вирішення проблеми, яку вирішував дисертант. Результати виконаної роботи інтерпретуються з урахуванням сучасного стану проблеми, її теоретичного і практичного значення. На підставі отриманих результатів дисертантом сформульовані рекомендації щодо проведення I фази клінічних досліджень Диклокору.

Висновки з роботи відповідають поставленим на початку роботи завданням, цілком конкретні, включають необхідний цифровий матеріал і переконливо доводять, що автор досягнув мети дисертаційного дослідження.

Список використаних джерел оформлений згідно існуючих стандартів. Із контент-аналізу джерельної бази рецензованої роботи випливає, що посилання на наукові роботи останніх 10 років становлять більше 75% цитуємих джерел.

Зауваження щодо змісту дисертації.

Зауважень принципового характеру до роботи немає, а серед недоліків можливо зазначити наступне:

Звертає увагу непропорційний розподіл матеріалу за обсягом. Так, розділи 5 та 6 власних досліджень містять лише 8 та 9 сторінок, відповідно, тоді як розділ 8 становить 61 сторінку. Вважаю, було би доцільніше невеликі за обсягом розділи об'єднати, тоді як останній – навпаки, розділити на декілька частин. Це не вплине на загальну логіку роботи, проте зробить всі розділи більш цілісними.

В роботі подекуди зустрічаються технічні та стилістичні похибки, невдалі вислови, проте їх небагато, і в цілому робота написана грамотною мовою, читається і сприймається досить легко.

Зазначені недоліки не зменшують позитивного враження від роботи, і не впливають на її наукову та практичну цінність.

В плані дискусії хотілось би почути думку дисертанта з приводу наступних питань:

1. Який механізм дії, на Вашу думку, переважає у досліджуваного препарата – антициклооксигеназний чи антиліпоксигеназний? Чи можете Ви порівняти диклор, хоча би гіпотетично, зі стероїдними протизапальними засобами?

2. Умови створення нового засобу, як зазначено в роботі, виключають можливість фармацевтичної взаємодії компонентів Диклору. Як, на Вашу думку, можна тоді пояснити більш виразну ефективність цього засобу? Якщо припустити взаємодію на рівні фармакокінетики, то на якому етапі вона можлива?

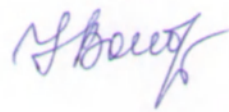
3. Враховуючі численні доклінічні та вже і клінічні дослідження диклору, які у цього препарату відмічені побічні ефекти та будуть протипокази до застосування?

4. Ваша робота присвячена обґрунтуванню застосування Диклору як засобу для лікування запально-деструктивних та дегенеративно-дистрофічних захворювань суглобів. Однак всім відомо, що спектр показань до застосування основних компонентів цієї фармацевтичної композиції набагато ширший. У зв'язку з цим, які ще покази (можливо, за МКХ-10) будуть у цього препарату, а також, які ще доклінічні дослідження слід провести, щоб виявити можливі інші сфери його використання (онкологія, виразковий коліт, тощо)?

Висновок. Дисертаційна робота Попова О.С. «Фармакологічне дослідження комбінованого нестероїдного протизапального препарату «Диклор» є завершеною самостійною науковою працею автора, в якій

вирішується актуальне завдання фармакології – покращення фармакотерапії запально-деструктивних та дегенеративно-дистрофічних захворювань суглобів шляхом застосування нового ефективного та безпечного комбінованого препарату, що містить диклофенак та кверцетин. За актуальністю теми, об'ємом проведеного дослідження, теоретичним і практичним значенням, науковою новизною одержаних результатів робота Попова О.С. відповідає паспорту спеціальності 14.03.05 – фармакологія та вимогам, що висуваються до робіт на здобуття наукового ступеня кандидата наук, викладених у п. 11 "Порядку присудження наукових ступенів", затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р., № 567, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 - фармакологія.

Офіційний опонент -
завідувач кафедри фармакології
Вінницького національного
медичного університету імені М. І. Пирогова
МОЗ України,
доктор медичних наук, професор



Н.І. Волощук

27.03.2017 р.

