

ВІДГУК

офіційного опонента

на дисертаційну роботу Прокопчук Олени Геннадіївни

“Комплексні сполуки Sn(IV) з саліцілоїлгідрозонами бензальдегідів як потенційні біологічно активні речовини з протизапальною, аналгетичною та супутньою фармакологічною дією”, яку подано до спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01 на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.05 - Фармакологія

1. Актуальність обраної теми дисертаційної роботи.

Біль є це не тільки симптомом більшості захворювань, а й складним психофізіологічним феноменом, до якого залучено механізми регуляції і формування емоцій, моторні, гуморальні і гемодинамічні прояви, що формують больовий синдром. Біль і тривале больове подразнення формують стійкі патологічні реакції в периферичній і центральній нервовій системі. Хронічний біль представляє ризик для організму, викликає нейрофізіологічні зміни і порушення гомеостазу всього організму. При довготривалому болю розвивається хронічний больовий синдром (ХБС), що характерно й для багатьох хронічних захворювань.

Хронічний больовий синдром є самостійним захворюванням. Він не виконує захисної функції і не несе ніякої біологічної доцільності. Навпаки, хронічний біль веде до дезадаптації, до ненормального сприйняття больових і не больових імпульсів і супроводжується різними порушеннями функцій ЦНС.

Комплексний характер болю визначає також й необхідність сумісного застосування декількох лікарських засобів для усунення або зменшення окремих симптомів, однак найчастіше це висуває не перший план й проблему поліпрагмазії, коли ліки, що застосовуються одночасно, викликають ризик розвитку лікарської взаємодії та, відповідно, неочікуваних побічних ефектів. З цієї точки зору використання у клінічній практиці сполук із полімодальним механізмом дії, які одночасно впливають на декілька систем, а їх кінцевий ефект є результатом поєднаного коригування різних патологічних симптомів, є

одним з сучасних підходів до раціональної терапевтичної регуляції стану хворих.

З огляду на це дисертація **Прокопчук Олени Геннадіївни**, метою якої є дослідження аналгетичної, протизапальної, антипіретичної, протисудомної, міорелаксантичної, антидепресантичної та анксиолітичної активності нових комплексних сполук SnCl_4 з саліцилоїлгідрозонами бензальдегіду та 4-бромбензальдегіду є обґрунтованим, актуально та практично необхідним дослідженням.

2. Зв'язок теми дисертаційної роботи з державними та галузевими науковими програмами.

Дисертаційна робота була виконана відповідно до плану науково-дослідницької роботи МОН України у рамках теми «Дослідження фізико-хімічних та фармакологічних властивостей нових природних та синтетичних речовин з протизапальними властивостями» (2012-2016, № держреєстрації 0112U002387), «Молекулярні механізми зв'язування нових лігандів з аналгетичною, протизапальною та нейротропною активністю з TRP, ГАМК та гліциновими рецепторами» (2017-2019, № держреєстрації 0117U001102), та на кафедрі органічних та фармацевтичних технологій Одеського національного політехнічного університету в рамках науково-дослідної теми «Біологічно-активні ароматичні, аліциклічні та гетероциклічні сполуки, які впливають на центральну та периферичну нервову систему» (№ держреєстрації 0118U004051).

3. Особистий внесок здобувача.

Дисертаційна робота є самостійною науковою працею здобувача. Автором самостійно було здійснено інформаційний пошук та аналіз літератури за темою дисертації. Спільно з науковим керівником були сформульовані тема, мета та завдання дисертаційної роботи, визначені методи дослідження. Дисертантом самостійно було опрацьовано моделі та методи досліджень,

відповідно до яких виконані експерименти, було оброблено отримані результати, проведені аналіз та узагальнення, оформлено таблиці та рисунки. Разом із науковим керівником сформульовані висновки та підготовлені публікації. У роботах, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал: результати власних експериментальних досліджень, участь в аналізі й узагальненні отриманих даних, підготовка статей до друку. Оформлення дисертаційної роботи й автореферату здійснено здобувачем самостійно.

4. Ступінь обґрунтованості наукових положень дисертації, їх достовірність та новизна.

Здійснивши аналіз більш ніж 250 джерел літератури, що присвячені як механізмам розвитку болю, так й підходам щодо його корекції, Прокопчук О.Г. було визначено напрямок дослідження - оцінку компонентів анальгетичної, протизапальної, анксиолітичної, міорелаксантичної та протисудомної дії що відповідає очікуванню, виходячи з аналізу літературних джерел, ймовірним біологічним ефектам. Виходячи з результатів узагальнення даних літературних джерел, стану проблеми пошуку нових анальгетичних засобів та потенційних біологічних властивостей координаційних сполук олова автором обґрунтовано мету та завдання дослідження, сформовано чіткий та логічний план проведення експериментальних досліджень, а у подальшому, на підставі аналізу отриманих результатів, сформульовано наукові положення роботи у вигляді висновків.

Застосований автором комплекс фармакологічних методів дозволив встановити у комплексних сполук олова (IV) анальгетичної активності на моделях аллілізоціанат- та капсаїцин-індукованого подразнення, а також продемонструвати ефективність цих сполук й на моделі супраспинального болю (гаряча пластина), при цьому за активністю досліджувані комплексні сполуки олова не поступались референтному препарату ібупрофену.

У тестах “піднесеного хрестоподіного лабіринту” та “відкритого поля” була продемонстрована різна активність комплексних сполук олова з

саліцилоїлгідрозонам бензальдегіду та бромбензальдегіду, котрі також проявляли протисудомну активність по антагонізму з коразолом. Загалом автором отриманий великий експериментальний матеріал, який демонструє поліспрямованність біологічної активності досліджуваних сполук та перспективність їх подальшого дослідження.

Враховуючи вищезазначене можна заключити, що наукові положення дисертаційної роботи є обґрунтованими, достовірні та логічні результати логічно сформовані на підставі отриманого та належним чином проаналізованого експериментального матеріалу, правильно оформлені та чітко сформульовані.

5. Наукова новизна роботи

Вперше проведено дослідження протизапальної дії саліцилоїлгідрозонів бензальдегіду та 4-бромбензальдегіду з оловом на моделях короткого і тривалого запалення. Доведено, що досліджені комплексні сполуки достовірно зменшують розвиток експериментального запального процесу. Також встановлено, що комплексні сполуки саліцилоїлгідрозонів бензальдегіду та 4-бромбензальдегіду з оловом проявляють достовірний антипіретичний ефект. За протизапальною та антипіретичною дією ці комплексні сполуки не поступаються референс-препарату ібупрофену. Встановлено, що обом комплексним сполукам SnCl_4 з саліцилоїлгідрозонами бензальдегіду та 4-бромбензальдегіду, притаманна антиноцицептивна активність. Вперше було встановлено, що досліджувані комплексні сполуки виявляють антидепресантну дію, що перевищує за ефективністю референс-препарат амітриптилін. Визначено, що антидепресантний ефект комплексів не супроводжується збільшенням локомоторної активності. Також було встановлено, що обидві комплексні сполуки проявляють седативний ефект у тестах “темно-світла камера” та “піднесений хрестоподібний лабіринт”. Встановлено наявність протисудомних властивостей комплексних сполук SnCl_4 з саліцилоїлгідрозонами бензальдегіду та 4-бромбензальдегіду.

6. Практичне значення результатів роботи.

Насамперед до практичної значущості роботи слід віднести те, що експериментально доказана перспективність нових комплексних сполук SnCl_4 з саліцилоїлгідразонами бензальдегіду та 4-бромбензальдегіду для подальшого поглибленого вивчення з метою створення на їх основі лікарського засобу широкого спектра дії. Результати роботи впроваджено в учбовий процес кафедри органічних і фармацевтичних технологій Одеського національного політехнічного університету, кафедри фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету та наукову роботу Фізико-хімічного інституту ім. О.В.Богатського НАН України.

7. Структура роботи.

Дисертаційна робота викладена на 173 сторінках, побудована у форматі із дотриманням сучасних вимог ДАК та складається зі вступу, огляду літературних джерел, розділу “Матеріали та методи”, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальненню отриманих експериментальних даних, висновків, списку використаних джерел літератури та додатків.

У вступі автором наведено інформацію щодо поширення больових синдромів, що супроводжують різні захворювання. Приділено увагу сучасній фармакотерапії болю, необхідності поєданого впливу та перевагам застосування ад’ювантної терапії. Гідразони, як потенційно привабливі біологічно-активні сполуки, визначені перспективними для вивчення структурами, для яких очікується необхідний для ефективного лікування больового синдрому спектр активностей. На підставі наведеної інформації сформульовано мету та завдання дослідження.

Огляд літератури проаналізовано стан мультимодального підходу до фармакотерапії больового синдрому, взаємозв’язку між депресивними станами та відчуттям болю та проблемам поліпрагмазії, які виникають на тлі лікування болю, а також біологічній активності гідразонів та їх комплексних сполук. Слід відзначити наведені автором дані щодо потенційних біологічних властивостей

комплексних сполук олова, які проявляють широкий спектр активностей, зокрема, протизапальну дію, яка супроводжує альгезію, та протисудомну активність, як можливий предиктор центральної депримуєчої дії.

У розділі “**Матеріали та методи**” автором наведено дизайн дослідження, що включає попередній скринінг з 11 комплексних сполук тетраклоро-(N-4-R-бензиліденасаліцилоїл-гідразинато-R) станному (IV), дослідження гострої токсичності найбільш перспективних представників та використання комплексу фармакологічних методів для оцінки їх цільових видів активності - протизапальної, анальгетичної та антипіретичної, впливу на центральну нервову систему (анксіолітична, міорелаксанта, протисудомна дія тощо). Дослідження, виконані *in vivo* з використанням безпорідних щурів та мишей, проведені із дотриманням вимог погодження із лабораторними тваринами.

Автором обґрунтовано обрані не тільки сполуки-лідери за їх очікуваними фармакологічними властивостями, але й сполуки, що є структурними компонентами комплексів (з метою можливого встановлення парціального внеску), а також відповідні референтні сполуки, у порівнянні з якими здійснювалась оцінка біологічної активності у скринінгових поведінкових та фармакологічних тестах.

Слід підкреслити, що арсенал фармакологічних методів (формаліновий та капсаїциновий тест, аллілізоціанат-індукований біль, тест висмикування хвоста, тест Порсолта, піднесений хрестоподібний лабіринт та інші) є не тільки загальноприйнятим, але вони є добре стандартизованими та опробуваними. Застосування означених методик та підходів дозволило отримати та належним чином обробити дані експериментальних досліджень для їх подальшої інтерпретації.

Третій розділ роботи присвячений комп'ютерному аналізу PASS та прогнозуванню видів фармакологічної активності серед ряду комплексних сполук олова з похідними саліцилоїлгідразонів. За результатами аналізу дві комплексні сполуки заслуговували уваги як перспективні протизапальні засоби

із супутніми аналгетичним, антидепресантним, антиноцицептивним, протисудомним та ін. Та проведено попереднє вивчення їх гострої токсичності.

Експериментальні дослідження дослідження протизапальної активності комплексних сполук Sn (IV) з саліцилоїлгідрозонами бензальдегідів на різних моделях запалення представлені у розділі **четвертому**. На моделях каррагінан-, формалінового та трипсинового запалення було вивчено протизапальну активність комплексів та припущено, що механізм дії досліджених комплексних сполук пов'язаний з інгібуванням циклооксигеназ. На моделі трипсин-індукованого запалення виразний протизапальний ефект комплексних сполук проявлявся вже через годину після початку експерименту, а максимальну протизапальну дію проявляв комплекс II. Загалом, було визначено, що комплексні сполуки I та II проявляють протизапальну активність на різних моделях гострого (трипсинового, гістамінового, каррагінанового) і тривалого (формалінового) запалення.

У **п'ятому** розділі автором була проведена оцінка аналгетичної активності комплексних сполук Sn (IV) з саліцилоїлгідрозонами бензальдегідів на різних моделях індукованого болю. У тесті імерсії хвоста обидві комплексні сполуки Sn (IV) з саліцилоїлгідрозонами бензальдегіду та 4-бромбензальдегіду виявляли аналгетичний ефект, що перевищував дію ібупрофену та саліцилової кислоти через 5 годин експерименту. На моделі "гарячої пластини" (термічно індукований супраспінальний біль) було оцінено аналгетичну дію комплексів при їх внутрішньому та місцевому застосуваннях та встановлено, що комплексна сполука II. На моделі капсаїцин-індукованого болю обидві комплексні сполуки проявляли виражений знеболюючий ефект впродовж 5 годин експерименту та не поступалися за своєю ефективністю референс-препарату ібупрофену, а також проявляли виразну антиноцицептивну дію на моделі аллілізоціанатного болю.

Шостий розділ містить інформацію про дослідження комплексних сполук Sn (IV) на центральну нервову систему. Антидепресантна активність досліджуваних сполук у тесті Порсолта перевищувала дію референтного

препарату (амітриптилин). Також сполуки виявили вплив на локомоторну активність тварин (миші) у тесті “відкритого поля” із певними відмінностями у досягненні максимальної величини ефекту у часі. У тесті “темно-світла камера” анксиолітична активність комплексних сполук I і II через три години після початку експерименту була співставною із референс-препаратом у порівнянні з референс-препаратом фабомотізолом. Також виразний анксиолітичний ефект для сполуки I (та, дещо нижчий для комплексної сполуки II) було визначено у тесті піднесеного хестоподібного лабіринту.

Разом з тим, досліджувані сполуки не виявили міорелаксатної дії у тесті “стрижня, що обертається” та проявляли протисудомну активність у тесті по антагонізму з коразолом, яка була співставною з референс-препаратом, вальпроєвою кислотою у перші години після введення.

Аналіз та узагальнення отриманих експериментальних даних, їх інтерпретація та співставлення із інформацією про наведені у джерелах літератури механізми розвитку патологічних станів у задіяних експериментальних моделях було здійснено у наступному розділі. Автором ретельно проаналізовані отримані дані з урахуванням величин ефектів, що спостерігались, специфіки фармакологічних моделей та можливих біологічних мішеней, які можуть бути задіяні у реалізації біологічних ефектів досліджуваних комплексних сполук. Зазначено, що проведені експериментальні дослідження доводять доцільність подальшої роботи та розробки препаратів на основі комплексних сполук SnCl_4 з саліцилоїлгідрозонами бензальдегіду і 4-бромбензальдегіду у комплексній терапії коморбідних депресивних розладів.

8. Повнота викладання матеріалу дисертаційної роботи у наукових публікаціях.

Список наукових праць, наведений у дисертаційній роботі, підтверджує повноту відображення та оприлюднення отриманих експериментальних даних

та узагальнюючих висновків, які висуваються на захист, у наукових виданнях та на достатній кількості конференцій.

Загалом за матеріалами дисертації було опубліковано 16 наукових робіт, в яких повною мірою відображено її зміст, у тому числі 5 статей у наукових фахових виданнях, рекомендованих ДАК МОН України (1-іноземною мовою) та 1 у закордонних виданнях, 10 тез доповідей у матеріалах міжнародних та вітчизняних конференцій.

Автореферат повністю відображує зміст дисертації.

9. Зауваження

Структура та викладання дисертаційної роботи відповідають сучасним вимогам відносно структури, змісту та технічного оформлення. Автором було ретельно підготовлено, перероблено та належним чином оформлено експериментальний матеріал у табличному та графічному вигляді для найбільш зручного його сприйняття. Проте, при ознайомленні з роботою виникли деякі зауваження:

- стор. 25. фраза “ЦОГ-1 є конструктивною...” є, ймовірно, помилкою, та має бути замінена на “конститутивною”

- Фраза “...інгібування ГАМК...” (стор. 119) мабуть, має на увазі “інгібування вивільнення ГАМК”

- Приймаючи до уваги, що до складу комплексів, що вивчались, входить похідне саліцилової кислоти, а пероральний шлях є найбільш очікуваним для застосування, було б доцільно вивчити вплив цих сполук на слизову оболонку шлунково-кишкового тракту.

- не охарактеризована, хоча б приблизно, стійкість комплексних сполук, що вивчались. Слід було б навести принаймні орієнтовні величини констант стійкості комплексів, що вивчались.

- Стор.87 “... Таким чином, можна зробити висновок, що комплексна сполука I інгібує синтез простагландинів, в особливості ПГЕ2, тим самим впливаючи на нервові клітини центру терморегуляції”. Ібупрофен, що

використовувався у якості референс-препарату, має переважно периферичну дію. Щоб наводити ствердження про центральний механізм дії сполук, потрібно було б використовувати препарат з очікуваним механізмом дії, наприклад, парацетамол.

Однак, наведені зауваження не торкаються змісту роботи та не зменшують її практичної актуальності та цінності отриманих результатів.

Також при ознайомленні з роботою виникла низка **запитань**:

1. Стор. 114 “Введення саліцилової кислоти достовірно викликає седативний ефект за обома показниками (табл 3.3.1 і 3.3.2).”. Чи є в літературі дані щодо анксиолітичної дії саліцилової кислоти? У результатах дослідження (Almaghour HG, Sherif FM. Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on behavioral actions of diazepam in mice. *Neurosciences (Riyadh)*. 2010 Apr;15(2):84-9. PMID: 20672494.) вказано, наприклад, що ацетилсаліцилова кислота не має впливу на анксиолітичний, міорелаксантий та седативний ефекти діазепаму, проте збільшує тривалість викликаного ним сну. Приймаючи до уваги, що саме ГАМК-ергічна система приймає провідну участь у розвитку цих ефектів (як вказано на стор. 80), чим можна пояснити такі розбіжності у ефектах саме ацетилсаліцилової та саліцилової кислот? (зміна модулюючої дії простагландинів, активація суміжних систем тощо?).

2. У склад розробленої м'якої лікарської форми для купірування больового синдрому входить 1,2-пропіленгліколь, який, як відомо, є підсилувачем проникності шкіри. Чи проводились дослідження із використанням лікарської форми без 1,2-пропіленгліколю та чи було вивчено інші підсилувачі проникності?

3. Пірогенал-індукована гіпертермія опосередкована здебільшого продукцією цитокінів та активацією моноцитів. Чи було проведено паралельне дослідження параметрів лейкоцитарної формули експериментальних тварин у даному тесті з метою встановлення можливого впливу сполук на імунну ланку термогенезу?

Висновок

Дисертаційна робота Прокопчук Олени Геннадіївни «Комплексні сполуки Sn(IV) з саліцилоїлгідрозонами бензальдегідів як потенційні біологічно активні речовини з протизапальною, анальгетичною та супутньою фармакологічною дією» є самостійною та завершеною науковою працею, що виконана на належному методичному та науковому рівні.

В роботі встановлено спектр фармакологічної активності комплексних сполук SnCl₄ з саліцилоїлгідрозонами бензальдегіду та 4-бромбензальдегіду та експериментально обґрунтовано доцільність подальшої розробки нових лікарських препаратів з широким спектром фармакологічної активності на їх основі

За актуальністю теми, теоретичним та практичним значенням отриманих результатів робота повністю відповідає п.11 Положення про Порядок присудження наукових ступеней і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника, затвердженого Постановою кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. щодо дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук, а її автор заслуговує присвоєння наукового ступеня за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія (біологічні науки).

Доктор біологічних наук,
Завідувач лабораторії фізико-хімічної фармакології
відділу медичної хімії
Фізико-хімічного інституту ім. О.В.Богатського
НАН України

В.Б. Ларіонов

Вчений секретар
Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського
НАН України,
к.х.н.



Є.В. Шабанов