

Рецензія рецензента
доцента кафедри мікробіології
Державного некомерційного підприємства «Львівський національний медичний
університет імені Данила Галицького»
доктора філософії (PhD) доцента Конечного Юліана Тарасовича
на дисертацію Ковалю Андрія Ярославовича
«Пошук та вивчення речовин з анальгетичною, протизапальною та
фригопротекторною дією серед нових похідних 5,7-діацил-3-Н(алкіл)-6-арил-
5Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину»
на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 Медицина, галузь
знань 22 Охорона здоров'я

**Актуальність обраної теми дисертації та її зв'язок з державними чи
галузовими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки і
технік**

Дисертаційна робота Ковалю Андрія Ярославовича присвячена вивченню
залежності анальгетичного, протизапального, фригопротекторного ефектів у нових
похідних 5,7-діацил-3-Н(алкіл)-6-арил-5Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину
від хімічної структури та встановленню потенційної найбільш ефективної
сполуки, вивчення її безпечності та можливостей її використання для створення
нового лікарського засобу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами

Дисертаційна робота Ковалю Андрія Ярославовича є фрагментом
комплексної науково-дослідної роботи Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького (державна реєстрація 0114U000956,
0121U107504).

Наукова новизна

У межах роботи вперше проведено дослідження фармакодинаміки та
механізмів дії нових похідних 5,7-діацил-3-Н(алкіл)-6-арил-5Н-
[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину. Системний підхід, що поєднував
фармакологічні (моделювання болю, викликаного термічним та хімічним
факторами, моделювання ексудативного запалення, моделювання гострої
холодової травми, вивчення гострої токсичності, оцінка дозозалежності
знеболювального ефекту, визначення опіоїдєргічної складової в механізмі дії,
дослідження поведінкових реакцій), гемостазіологічні (протромбіновий час,
тромбіновий час, активований частковий протромбіновий час, фібриноген,
протромбін, тромбін, D-димер), біохімічні (маркери запалення, Синтаза оксиду
азоту) методи та віртуальний скринінг, молекулярний докінг, вивчення
цитотоксичної дії, дозволив ідентифікувати серію перспективних біологічно

активних сполук та спрогнозувати їх ймовірні механізми дії. Зокрема, автором було вперше проведено віртуальний скринінг за допомогою он-лайн сервісу SwissTargetPrediction нових похідних 5,7-діацил-3-Н(алкіл)-6-арил-5Н-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину, який показав вірогідність широкого спектру біологічних активностей та став підставою експериментальної верифікації. Вперше в умовах *in silico* проведений молекулярний докінг нових похідних 5,7-діацил-3-Н(алкіл)-6-арил-5Н-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину. У дисертаційній роботі вперше визначено гостру токсичність та встановлено, що всі сполуки-хіти належать до IV класу токсичності ($500 \text{ мг/кг} < \text{LD}_{50} < 5000 \text{ мг/кг}$) за класифікацією Hoge та Sterner (малотоксичні), а також не виявляють суттєвої цитотоксичності для трансформованих клітин нирки ембріона людини лінії HEK293T і макрофагів миші лінії J774.2, що дозволяє розглядати їх як потенційно безпечні для подальших доклінічних досліджень.

Теоретичне значення результатів дослідження

Результати одержані автором, за підсумками досліджень в області хімії похідних 5,7-діацил-3-Н(алкіл)-6-арил-5Н-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину, мають теоретичну цінність для органічної, медичної та фармацевтичної хімії. У даній роботі представлено низку ефективних методик дослідження фармакодинаміки та механізмів дії, що становлять цінність для науковців, які спеціалізуються на медичній хімії та дослідженнях фармакологічної активності. Застосовано сучасні та загальноприйняті підходи, зокрема *in silico* та *in vitro* методи досліджень.

Практичне значення результатів дослідження

Результати досліджень дисертаційної роботи Ковалю А.Я. відкривають нові перспективи та мають цінне практичне значення для розробки нових препаратів із покращеними фармакологічними властивостями. Автором обґрунтовано можливість створення на основі сполуки-лідера 1-(5-Ацетил-3-метил-6-феніл-5Н-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-іл)-етанону нового неопіоїдного знеболювального засобу. Розроблено ефективні підходи раціонального дизайну біологічно активних молекул, які мають суттєве значення для медичної та фармацевтичної хімії. Отримані результати сприяють визначенню стратегічних напрямів для подальшого цільового синтезу біологічно активних речовин із потенційним терапевтичним застосуванням.

Результати дослідження стали основою для патенту України на винахід № 112372, що підтверджує новизну та практичну цінність отриманих даних.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих в дисертації

Дисертаційне дослідження відзначається високим рівнем наукової обґрунтованості, методологічної системності та практичної значущості. Достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій сформульованих у дисертації забезпечуються адекватно обраними науково-методичними

підходами для вирішення мети і завдань дослідження, достатнім обсягом досліджуваного матеріалу. Статистична обробка одержаних експериментальних даних відповідає сучасним вимогам до наукових досліджень. Узагальнення отриманих результатів та їх інтерпретація є коректними, а первинна документація повністю узгоджується із даними, наведеними в дисертаційній роботі, що підтверджує її високу наукову цінність.

Оцінка змісту, оформлення та обсягу дисертації, зауваження щодо оформлення

Дисертаційна робота викладена на 213 сторінках друкованого тексту, складається з анотації, вступ, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, 4-х розділів власних досліджень, загальних висновків, списку використаних літературних джерел та додатків.

Анотація українською та англійською мовами чітко відображає основні результати дисертаційного дослідження.

У **Вступі** обґрунтовано вибір теми дослідження, зазначено їх мету та завдання, а також методи, які були використані в ході виконання дисертаційної роботи, зазначено наукову новизну, практичне значення результатів та вказано особистий внесок здобувача.

У **першому** розділі представлено аналіз даних джерел літератури та показано, що сучасна медицина потребує впровадження у клінічну практику нових знеболювальних засобів, які переважають існуючі за ефективністю та/чи безпекою, оскільки відомі анальгетики повною мірою не задовольняють вимог практичної медицини.

Наступні розділи присвячені експериментальним дослідженням та інтерпретацією їх результатів. Зокрема, у **другому** розділі описано матеріали та методи, які застосовувались для проведення дослідження.

У **третьому** розділі представлено результати досліджень прогнозування імовірності активностей досліджуваних сполук за допомогою он-лайн сервісу SwissTargetPrediction. Встановлено ймовірність наявності знеболювальної активності та/чи протизапальної дії, що стало підставою для експериментальної верифікації, що проводилась на моделях «гарячої пластини» та оцтовокислих «корчів» з метою виявлення центрального та периферичного впливу на ноцицептивну систему. Експериментальна верифікація антиноцицептивної активності 5,7-діацил-3-Н(алкіл)-6-арил-5Н-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів засвідчила, що досліджувані сполуки виявляють виразну антиноцицептивну активність.

У **четвертому** розділі наведено результати молекулярного докінгу, які засвідчили, що нові похідні 5,7-діацил-3-Н(алкіл)-6-арил-5Н-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину можуть виявляти протизапальний вплив переважно через вплив на 5-ліпоксигеназо активуючий протеїн та меншою мірою через 5-ліпоксигеназу, а вплив на циклооксигеназу-1 та циклооксигеназу-2 є меншим у

порівнянні з референтними лікарськими засобами. Досліджено цитотоксичну дію та визначено гостру токсичність. Обґрунтовано доцільність подальшого поглибленого вивчення як потенційного протизапального, знеболювального та фригопротекторного засобу 1-(5-ацетил-3-метил-6-феніл-5Н-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-іл)-етанону.

У **п'ятому** розділі представлено результати фармакологічного дослідження (аналгетичних, протизапальних, фригопротекторних властивостей) 1-(5-ацетил-3-метил-6-феніл-5Н-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-іл)-етанону.

У **шостому** розділі представлено результати дослідження впливу 1-(5-ацетил-3-метил-6-феніл-5Н-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-іл)-етанон (IFT-247) на перебіг гострої холодової травми в щурів та встановлено, що сполуку доцільно розглядати насамперед як неопіоїдний анальгетик та фригопротекторний засіб, меншою мірою як протизапальний засіб.

Усі представлені розділи завершуються чітко сформульованими короткими висновками, які висвітлюють основні результати отримані дисертанткою.

Загальні висновки представлені в логічній послідовності, демонструють сумарні отримані результати і відповідають меті та завданням дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота написана сучасною науковою мовою, добре структурована та логічно викладена.

Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації

Загальна оцінка дисертаційної роботи позитивна, однак є деякі зауваження:

1. У роботі виявлено цікаву дисоціацію між виразною фригопротекторною та помірною протизапальною активністю сполуки-лідера IFT_247. В розділі "Аналіз та узагальнення результатів" було б доцільно поглибити обговорення цього феномену, висунувши гіпотезу про можливі альтернативні механізми фригопротекції, не пов'язані безпосередньо з пригніченням запального каскаду.

2. Щодо оформлення, у тексті дисертації латинські терміни, такі як «*in vivo*», «*per se*», не виділено курсивом, що є загальноприйнятою практикою в наукових публікаціях. У тексті дисертаційній роботі трапляються стилістичні та друкарські помилки, наприклад «пеєріоду» замість «періоду», «невести» замість «навести», «представляють» замість «становлять», «відчування» замість «відчуття», інші.

У цілому наведені зауваження не мають принципового характеру та жодним чином не зменшують наукової та практичної цінності отриманих автором результатів.

Запитання, які виникли при рецензуванні дисертації:

1. Результати Вашого молекулярного докінгу вказують на переважний вплив на шлях 5-ліпоксигенази, що підтверджується зниженням рівня лейкотрієнів. Водночас, протизапальна активність на моделі карагенінового

набряку, яка значною мірою залежить від простагландинів, була помірною. Як Ви пояснюєте цю відносну селективність дії *in vivo* та її наслідки для терапевтичного потенціалу сполуки IFT_247 як знеболювального засобу?

2. Ви згадуєте, що дослідження гострої токсичності важливе для подальших «клінічних випробувань». Які, на вашу думку, клінічні перспективи даних сполук? Враховуючи унікальний подвійний профіль сполуки IFT_247 як неопіоїдного анальгетика та потужного фригопротектора, яку клінічну нішу Ви бачите для такого препарату? Наприклад, чи міг би він бути корисним для військової медицини, невідкладної допомоги при гіпотермії, або для пацієнтів з больовим синдромом, що загострюється на холоді, як при синдромі Рейно?

Повнота викладення основних результатів дисертації в опублікованих працях.

За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових праць, з яких 1 стаття у журналі, що індексується наукометричною базою Scopus, 4 статті в наукових фахових виданнях України, 1 патент на винахід України, 8 тез доповідей та 1 патент на корисну модель.

Дані про відсутність текстових запозичень та порушень академічної доброчесності (академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації)

Матеріали та дослідження, представлені у дисертації Ковалю Андрія Ярославовича були проаналізовані та підтверджені на відповідність принципам наукової доброчесності. Встановлено відсутність академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації чи фальсифікації даних. Подані матеріали є результатом оригінальної авторської праці.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці

Результати проведеного експериментального та скринінгового дослідження дозволять отримати нові сполуки-кандидати в знеболювальні, протизапальні та фригопротекторні засоби у майбутньому та оптимізувати напрямки фармацевтичного синтезу.

Результати дослідження, що отримані дисертантом Ковалем Андрієм Ярославовичем стали основою для патенту України на винахід № 112372, що підтверджує новизну та практичну цінність отриманих даних.

Висновок

Дисертаційна робота Ковалю Андрія Ярославовича «Пошук та вивчення речовин з анальгетичною, протизапальною та фригопротекторною дією серед нових похідних 5,7-діацил-3-Н(алкіл)-6-арил-5Н-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину» є самостійним і завершеним науковим дослідженням, що вирізняється новизною та практичною цінністю, а також повністю відповідає зазначеним цілям і завданням. Отримані дані роблять вагомий внесок у вирішення актуального наукового завдання фармацевтичної галузі України, а

саме - синтезу нових біологічно активних сполук, що мають потенціал для розробки лікарських засобів. Враховуючи актуальність, наукову новизну, об'єм та рівень досліджень, обґрунтованість висновків, теоретичне та практичне значення отриманих результатів, дисертаційна робота повністю відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 (із змінами та доповненнями) та вимогам оформлення дисертацій, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. № 40 та може бути рекомендована до захисту на здобуття ступеня доктора філософії у галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина.

Рецензент

доцент кафедри мікробіології,
ДНП «Львівського національного
медичного університету
імені Данила Галицького»
доктор філософії (PhD), доцент



Юліан КОНЕЧНИЙ