

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу **Ковалю Андрія Ярославовича**
на тему **«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»**

представлену до захисту в разову спеціалізовану вчену раду ДФ 35.600.138
ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького» на
здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я»
за спеціальністю 222 «Медицина»

Актуальність теми.

Больовий синдром та запальні процеси є типовими патофізіологічними реакціями організму при багатьох захворюваннях, травмах, оперативних втручаннях, що обумовлює потребу у застосуванні високоефективних та безпечних анальгетичних та протизапальних засобів. Однак недостатня ефективність лікарських засобів, особливо на фоні супутніх хронічних патологічних станів, висока ймовірність розвитку побічних ефектів, значний токсичний потенціал, зокрема при тривалому застосуванні, обмежують сучасні фармакотерапевтичні можливості лікування запальних процесів та больового синдрому, що обумовлює потребу розробки та дослідження нових хімічних структур з оптимальним профілем дії. Актуальним є також пошук ефективних засобів для профілактики та лікування холодових уражень, які є типовими як для умов надзвичайних ситуацій (військові дії, природні катастрофи), так і для окремих клінічних та професійних груп пацієнтів. Однак, незважаючи на значущість проблеми, фармакологічний арсенал фригопротекторних препаратів обмежений, а патогенетичні механізми дії більшості із них вивчені недостатньо. Тому, перспективним та актуальним напрямом є пошук нових речовин із анальгетичною, протизапальною та фригопротекторною дією, які б могли стати основою для створення нового більш ефективного та безпечного лікарського засобу.

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

Дисертаційна робота Ковалю А.Я. виконана в рамках науково-дослідної роботи ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького» «Синтез та перетворення нових фізіологічно-активних речовин – похідних неконденсованих і конденсованих сульфур- і нітрогеновмісних гетероциклів та споріднених гетероциклічних систем, з використанням методів *in silico* моделювання, вивчення фізико-хімічних властивостей та проведення фармакологічного скринінгу одержаних сполук, дослідження різних видів дикорослих та культивованих рослин західного регіону України з метою одержання нових лікарських засобів, розробка технології лікарських засобів нових складів та опрацювання сучасних методик фармацевтичного та токсикологічного аналізу» (2021-2025 рр., № державної реєстрації 0121U107504) та науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів», (2014-2028 рр., № державної реєстрації 0114U000956).

Наукова новизна одержаних результатів.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у комплексному методологічному підході до розробки теоретичних положень та обґрунтування рекомендацій щодо доклінічного скринінгу нових біологічно активних сполук похідних 5,7-діацил-3-Н(алкіл)-6-арил-5Н-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів. Дисертантом вперше проведені дослідження, які включали поєднання *in silico* прогнозування біологічної активності, докінгове моделювання, оцінку гострої токсичності, цитотоксичності *in vitro* та фармакологічні дослідження *in vivo*, що дозволило передбачити комплексну біологічну дію і сформулювати гіпотезу щодо потенціалу 23 нових біологічно активних сполук похідних 5,7-діацил-3-Н(алкіл)-6-арил-5Н-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів як знеболювальних, протизапальних та фригопротекторних засобів.

Вперше експериментально підтверджено наявність анальгетичної, протизапальної та фригопротекторної дії похідних 5,7-діацил-3-Н(алкіл)-6-арил-5Н-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину, зокрема сполуки IFT-247, в умовах модельних

патологій (ноцицептивного болю – моделі «гарячої пластини» та оцтовокислі «корчі», запалення та холодової травми), що підтверджує різноспрямований біологічний ефект досліджуваних сполук.

Вперше продемонстровано нормалізуючий вплив сполуки-лідера, IFT-247, на низку біомаркерів запалення (інтерлейкін-1 β , TNF- α), гомеостазу (D-димер, фібриноген, протромбіновий час), а також на рівень синтази оксиду азоту у тканинах печінки на моделі холодової травми, що вказує на складний патогенетичний механізм розвитку біологічної активності.

Вперше експериментально доведено відсутність впливу досліджуваних біологічно активних сполук на опіоїдні рецептори, що свідчить про оригінальний периферичний механізм розвитку знеболювальної активності та високий потенціал нових сполук як неопіоїдних анальгетиків з низьким ризиком формування залежності.

Результати досліджень вперше підтвердили сприятливий токсикологічний профіль сполук, при цьому усі досліджувані біологічно активні речовини класифіковано як малотоксичні (IV клас токсичності), вони не виявляють цитотоксичної дії щодо клітинних ліній HEK293T та J774.2, що обґрунтовує доцільність їх подальшого вивчення як потенційно безпечних кандидатів у лікарські засоби.

Теоретичне значення результатів дослідження.

Отримані в дисертаційній роботі результати мають вагоме теоретичне значення для розвитку сучасної експериментальної фармакології, медицини та фармації загалом, оскільки розширюють уявлення про біологічний та фармакологічний потенціал конденсованих гетероциклічних систем, зокрема тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів.

Використані у роботі методи *in silico* прогнозування, моделювання зв'язування з потенційними мішенями, а також експериментальні методи *in vitro* та *in vivo* дозволили сформувати нову модель дослідження речовин, яка закладає теоретичну основу для подальшого вивчення нових лікарських засобів з комплексною дією та сприяє формуванню сучасних уявлень про властивості

конденсованих гетероциклічних систем. Теоретичні положення та висновки дисертації можуть бути використані в галузі наукових досліджень з вивчення фармакологічного потенціалу похідних тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину як базових структур для створення на їх основі ефективних та безпечних потенційних лікарських засобів із анальгетичною, протизапальною та фригопротекторною дією.

Практичне значення результатів дослідження.

Практичне значення дисертаційної роботи Ковалю А.Я. полягає в розробці та апробації інноваційного комплексного підходу до пошуку та дослідження нових біологічно активних речовин з анальгетичною, протизапальною та фригопротекторною активністю. Показано, що визначений комплекс фармакологічних і токсикологічних характеристик нових похідних тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину забезпечує ефективну селекцію перспективних сполук на ранніх етапах дослідження для подальшої доклінічної розробки. Виявлені сполуки з анальгетичною, протизапальною та фригопротекторною активністю, зокрема IFT-247, можуть бути використані як структурні прототипи для створення нових лікарських засобів нового покоління.

Методологічні підходи, опрацьовані при виконанні дисертаційної роботи, можуть бути використані в інших дослідженнях при визначенні стратегічних напрямів для подальшого цільового синтезу біологічно активних речовин із потенційним терапевтичним застосуванням.

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

Положення, висновки та рекомендації, сформульовані у дисертаційній роботі Ковалю А.Я., є науково обґрунтованими, узгодженими та достовірними, що підтверджується використанням значної кількості фактографічних даних, сучасних методів аналізу (фармакологічних, біохімічних, токсикологічних, аналітичних, інформаційно-технологічних), статистичною обробкою одержаних результатів, а також фактом отримання патенту України на корисну модель (№102848).

Дані, отримані в ході *in vivo* досліджень на валідизованих моделях, мають

високий рівень достовірності, підтвердженої відповідним математичним аналізом. Результати *in vitro* досліджень на клітинних лініях, а також *in silico* прогнозування біологічних мішеней, взаємно доповнюють один одного та забезпечують цілісність наукових висновків.

Усі сформульовані висновки, положення та рекомендації логічно впливають із отриманих результатів, а їх статистична обробка 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 для розвитку медичної та фармацевтичної науки та подальшого практичного застосування.

Оцінка змісту, оформлення та обсягу дисертації, зауваження щодо оформлення.

Дисертаційна робота викладена на 213 сторінках друкованого тексту, з яких 126 основного тексту. Дисертаційна робота складається з анотації, переліку умовних скорочень, вступу, 6 розділів, загальних висновків, списку використаних літературних джерел, 3 додатків. Робота ілюстрована 18 таблицями та 32 рисунками. Список використаних джерел налічує 320 найменувань. Структура дисертації є логічною та має класичний характер викладення матеріалу.

Анотації українською та англійською мовами чітко відображають основні результати дисертаційного дослідження.

У **Вступі** обґрунтовано актуальність обраної теми, чітко сформульовано мету й завдання дослідження, окреслено використані методологічні підходи, визначено наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, а також зазначено особистий внесок здобувача у виконання дослідження.

У **першому розділі** наведено огляд, аналіз та узагальнення сучасних даних про патофізіологічні механізми болю та запалення, а також особливості фармакотерапії цих станів. Представлено аналітичний огляд методів, інструментів та засобів прогнозування аналгетичної та протизапальної активності з критичним аналізом їх переваг і обмежень. Обґрунтовано вибір похідних триазолу та тіадіазину як перспективних структур для подальшого дослідження. Наведено характеристику

нестероїдних протизапальних засобів як потенційних фригопротекторів.

Наступні розділи присвячені експериментальним дослідженням та інтерпретацією їх результатів. Зокрема, **другий розділ** дисертації описує матеріали та методи, використані у дослідженні, зокрема, наведено характеристику фармакологічних, біохімічних, гемостазіологічних методів дослідження, *in silico* та *in vitro*, а також статистичних методів.

У **третьому розділі** представлено результати первинного фармакологічного скринінгу синтезованих сполук із ряду 5,7-діацил-3-Н(алкіл)-6-арил-5Н-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину з метою виявлення їх аналгетичної та протизапальної активності. Представлено результати дослідження знеболювального потенціалу на класичних *in vivo* моделях гострого болю (тест «гарячої пластини» та «оцтовокислі корчі»), а протизапальну активність оцінювали на моделі ексудативного запалення (карагеніновий набряк).

Четвертий розділ дисертації включає результати поглибленого вивчення найбільш активних сполук, відібраних на етапі первинного фармакологічного скринінгу. Дослідження було спрямоване на уточнення спектру біологічної активності, вивчення механізмів дії, а також попередню токсикологічну характеристику речовин.

У **п'ятому розділі** представлено результати розширеного вивчення фармакодинамічних властивостей найбільш перспективної сполуки, що виявила високі аналгетичні та протизапальні властивості на попередніх етапах дослідження. Представлено результати аналізу опіоїдєргічного компонента в механізмі дії досліджуваної сполуки, оцінку центральних ефектів речовини з метою виявлення її потенційного впливу на центральну нервову систему.

Шостий розділ дисертації присвячений результатам експериментального дослідження фригопротекторних властивостей найбільш активної сполуки, що була відібрана за результатами попередніх фармакологічних випробувань. Дослідження здійснювалося на моделі гострої холодової травми у щурів, яка імітує клінічно значущі ушкодження тканин внаслідок дії низьких температур. Встановлено, що досліджувана сполука чинить виражений захисний ефект у тканинах, ушкоджених холодом, зменшуючи вираженість набряку, некрозу та місцевого запалення.

Біохімічний аналіз підтвердив її здатність модулювати рівень прозапальних цитокінів (зниження $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$), зменшувати концентрацію D-димеру, фібриногену та нормалізувати протромбіновий час, що свідчить про позитивний вплив на систему згортання крові. Також спостерігалось зниження активності NO-синтази у тканинах печінки, що вказує на антиоксидантний потенціал речовини. Отримані дані засвідчують, що 1-(5-ацетил-3-метил-6-феніл-5H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин-7-іл)-етанон здатен знижувати інтенсивність системної запальної відповіді та вторинного ураження органів при холодовій травмі, що дозволяє розглядати його як перспективний фригопротекторний засіб із багатогранним механізмом дії. Таким чином, розділ містить обґрунтовані дані фармакологічного профілю досліджуваної сполуки як ефективного анальгетика центральної дії без опіоїдного компонента, що відкриває перспективи її подальшого дослідження з метою створення інноваційного аналгетичного, протизапального, фригопротекторного засобу.

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

Загальні висновки представлені в логічній послідовності та повністю узагальнюють результати проведеного дослідження, відповідають поставленій меті та сформульованим завданням дисертаційної роботи. Висновки чітко структуровані, відображають основні наукові положення, підтверджені експериментальними даними, та демонструють наукову новизну й практичну значущість роботи.

Дисертаційна робота написана сучасною науковою мовою, логічно викладена та добре структурована і заслуговує позитивної оцінки. Разом із тим, слід звернути увагу на деякі неprinципові зауваження та дискусійні питання дисертаційної роботи:

- 1) У тексті зустрічаються поодинокі граматичні та друкарські помилки, невдалі вислови, повтори.
- 2) Для кращого сприйняття інформації, деякі рисунки у дисертації (рис. 3.1-3.5) доцільно було б подати у вищій якості зображення.

У плані наукової дискусії виникли запитання:

- 1) При виконанні досліджень вивчалися показники гострої токсичності та

цитотоксичності. Які види токсичності, на Вашу думку, доцільно ще оцінити враховуючи біологічні властивості досліджуваних речовин?

Повнота викладення основних результатів дисертації в опублікованих працях.

За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових праць, з яких 1 стаття у журналі, що індексуються наукометричною базою Scopus, 4 статті у фахових виданнях України, 1 патент на корисну модель України, 8 тез доповідей на наукових форумах різного рівня.

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

У результаті перевірки та аналізу представлених матеріалів в дисертації Ковалю Андрія Ярославовича встановлено відсутність академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації чи фальсифікації даних. Подані матеріали вирізняються оригінальністю тексту, є результатом авторської праці, не порушуючи принципів наукової доброчесності.

Рекомендації щодо використання результатів наукових досліджень на практиці.

Отримані в дисертаційній роботі результати можуть бути використані у практиці на етапі доклінічної розробки нових лікарських засобів з анальгетичною, протизапальною та фригопротекторною дією, зокрема на основі похідних тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину. Виявлена сполука-лідер продемонструвала високу біологічну активність і сприятливий токсикологічний профіль, що дозволяє розглядати її як перспективну субстанцію для створення інноваційних препаратів неопіоїдного типу дії.

Запропонований комплексний підхід до скринінгу нових біологічно активних речовин є перспективним для впровадження у практику наукових досліджень, що дасть можливість оптимізувати процеси раннього відбору потенційних кандидатів у

лікарські засоби.

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 завершеною науковою працею, в якій отримані нові оригінальні науково обґрунтовані результати, що мають як теоретичне, так і практичне значення для медицини та фармації та сприяють вирішенню науково-практичного завдання – створення інноваційних лікарських засобів з високими показниками ефективності та безпеки.

За актуальністю, об'ємом проведених досліджень, ступенем обґрунтованості і достовірності положень, висновків і рекомендацій, викладених в дисертації та публікаціях дисертанта, новизною досліджень, їх теоретичним і практичним значенням дисертаційна робота «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» 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», затвердженому Постановою Кабінету Міністрів України від 12.01.2022 р. № 44 (із змінами та доповненнями) та Наказу Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації», та може бути рекомендована до захисту на здобуття ступеня доктора філософії у галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина.

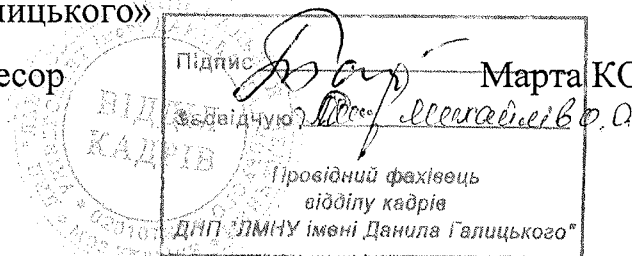
Рецензент,

професор кафедри патологічної фізіології

ДНП «Львівський національний медичний

університет імені Данила Галицького»

доктор медичних наук, професор



Марта КОЛІШЕЦЬКА