

ВІДГУК

офіційного опонента

завідувача кафедри фармакології Полтавського державного медичного університету, доктора медичних наук, професора Луценка Руслана Володимировича на дисертаційну роботу Боцули Ірини Валеріївни за темою «Експериментальне дослідження нових похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів як потенційних протитривожних засобів», яку подано до спеціалізованої Вченої ради ДФ 64.605.097 при Національному фармацевтичному університеті МОЗ України, що утворена наказом від 30.08.2024 р. № 70-Адм. для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

Обґрунтування вибору теми дослідження

Тривожно-депресивні розлади є одними з найпоширеніших психічних захворювань і часто призводять до значних функціональних порушень, погіршуючи якість життя людини. Протягом останніх років пандемія COVID-19 мала серйозний вплив на психічне здоров'я в усьому світі, зокрема через соціальну ізоляцію, економічну невизначеність та проблеми зі здоров'ям, що підсилювали тривожні симптоми і викликали нові психічні розлади. Повномасштабна війна в Україні, разом із постковідною ситуацією, сприяє ще більшому зростанню тягаря психічних розладів у системі охорони здоров'я. Згідно з даними ВООЗ, кожна п'ята людина, яка постраждала від війни, ризикує захворіти на психічне захворювання, що в Україні сьогодні становить близько 8,5 мільйонів людей.

Розлади психічного здоров'я, що виникають внаслідок психологічних травм, військових конфліктів, стресових ситуацій або діагностики онкологічних захворювань, особливо на пізніх стадіях, є серйозною проблемою в сфері громадського здоров'я на глобальному рівні. Дослідження останніх років підкреслюють важливість вивчення та пошуку нових сполук на

основі бензодіазепінів, зокрема триазолобензодіазепінів, для лікування тривожних станів і розладів. Крім того, ці дослідження зосереджені на встановленні наявності інших біологічних активностей цих сполук, що може розширити їхнє застосування в медицині та покращити терапевтичні можливості.

Метою дисертаційної роботи Боцули Ірини Валеріївни стало експериментальне обґрунтування можливості застосування похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів в якості потенційних протитривожних засобів, що є актуальним, своєчасним та дозволить фармацевтичній індустрії адаптуватися до сучасних викликів і забезпечити ефективні рішення для покращення здоров'я пацієнтів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертація є фрагментом науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956), в якій дисертантка є співвиконавцем.

Наукова новизна одержаних результатів. Дисертанткою вперше проведено молекулярний докінг нових похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів відносно бензодіазепінового сайту ГАМК рецептора та визначення їхньої фармакологічної активності. Вперше здійснено дослідження цитотоксичності, генотоксичності та фоточутливості обраних похідних в умовах *in vitro* та встановлено відсутність їхнього токсичного впливу на проліферацію культур клітин та їхню мітохондріальну метаболічну активність і ріст штаму *S. typhimurium*. Скринінгові дослідження фармакологічної активності нових похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів визначили їхню виразну анксиолітичну, антидепресивну та анагетичну активності, незначну міорелаксуючу дію, зменшення рівня тривоги та психоемоційного напруження.

Вперше сформовано з метою покращення цільової доставки і фармакодинамічного ефекту нановолокна, завантажені похідними МА-252,

МА-253 та МА-254, за допомогою технології електропрядіння та здійснено фармакологічне дослідження *in vivo*, під час проведення якого встановлено покращення анксиолітичної, антидепресивної, аналгетичної активностей порівняно зі скринінговими дослідженнями. Визначено сполуку-лідера МА-253, що продемонструвала себе як найперспективніша для подальшого дослідження.

Визначено актопротекторну активність сформованих нановолокон, завантажених МА-253. При поглибленому дослідженні похідного МА-253 вперше виявлено потенціювання ним дії етанолу шляхом пролонгування тривалості бічного положення, а також антагонізм до кофеїну, що призводить до посилення гальмівних аденозинергічних впливів у ЦНС.

Тривале застосування похідного МА-253 у тварин не призводило до зменшення фармакологічних ефектів, що свідчить про відсутність розвитку толерантності до його дії. Безпечність його використання визначено за умов одноразового гострого введення мишам та тривалого застосування протягом 28 днів у щурів, де поведінка та зовнішній вигляд тварин були без суттєвих змін, а загальнотрофічні процеси, функції печінки та нирок не відрізнялись таких у групі контролю.

Вперше в межах дисертаційної роботи розроблено та оптимізовано склад нових функціоналізованих формул ПЕО-гелю, що поєднують нановолокна, завантажені МА-253, та сухий екстракт кропиви собачої трави, модифікований валіном, для фармацевтичного напівтвердого екструзійного 3D-друку. Продемонстровано придатність надруковані 3D-зразків для перорального застосування з негайним вивільненням, що може бути використано при створенні персоналізованих лікарських препаратів.

Наукова новизна дисертаційного дослідження захищена патентами України на корисну модель №155538 (06.03.2024, Бюл. №10), №156108 (08.05.2024, Бюл. №19).

Теоретичне та практичне значення отриманих результатів.
Отримані результати формують теоретичну базу для розробки лікарських

засобів з анксиолітичною та аналгетичною дією на основі похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів, які демонструють широкий спектр фармакологічної активності, не викликають толерантності при застосуванні протягом 28 днів і мають сприятливий профіль безпеки як при одноразовому, так і при тривалому використанні.

Результати дисертаційної роботи впроваджені у науково-педагогічний процес кафедр наступних закладів вищої освіти України: хімії ПВНЗ «Київський медичний університет» (протокол №10 від 30 травня 2024 року), клінічної фармакології та внутрішньої медицини Харківського національного медичного університету (протокол №17 від 31 травня 2024 року), фармакології, клінічної фармакології та фармації Полтавського державного медичного університету (протокол № 20 від 14 червня 2024 року), фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету (протокол № 7 від 19 червня 2024 року), загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету (протокол № 11 від 20 червня 2024 року).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації. Методи, використані в роботі, повністю відповідають поставленим завданням. Кількість проведених експериментів є достатньою для забезпечення достовірності та обґрунтування основних положень дослідження. Висновки є аргументованими, логічно випливають із наданих даних, відображають новизну результатів і мають важливе науково-практичне значення. Матеріал, наведений у дисертаційній роботі Боцули І. В., є новим, своєчасним та перспективним для подальшого впровадження у практичну фармацію.

Повнота викладення матеріалів дослідження. Матеріали дисертаційної роботи представлені в 19 наукових роботах, у тому числі 5 статей у наукових фахових виданнях, 2 з яких індексуються в наукометричній базі Scopus, 12 тез доповідей, 2 патенти України на корисну модель. Результати роботи викладено та обговорено на науково-практичних

конференціях та семінарах різного рівня.

Аналіз змісту дисертаційної роботи, її завершеності та оформлення. Дисертаційна робота Боцули Ірини Валеріївни викладена на 274 сторінках та складається з анотації українською та англійською мовами, змісту, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження» та 5 розділів з результатами власних експериментальних досліджень, «Аналізу та узагальнення одержаних результатів», «Висновків», списку використаних джерел і 4 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 168 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 38 таблицями та 46 рисунками. Список використаних джерел налічує 273 найменування, із них 45 кирилицею та 228 латиницею.

Робота починається з анотацій українською та англійською мовами, оформленими згідно з чинними вимогами.

Вступ написаний дисертанткою повноцінно і включає всі складові передбачені вимогами до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії, де авторка розкриває актуальність обраної теми дисертації, обґрунтовує доцільність проведення досліджень, чітко формулює мету, завдання, об'єкт та предмет дослідження.

Огляд літератури складається з 5 підрозділів та висвітлює сучасні аспекти проблеми тривожних розладів, їхній патогенез, підходи до терапії бензодазепіновими похідними та перспективність застосування похідних триазолобензодіазепінів як потенційних анксіолітиків.

У розділі «Матеріали і методи дослідження» наведені хімічні формули досліджуваних сполук, препарати порівняння, експериментальні моделі та методи статистичної обробки даних. Представлено загальний дизайн експерименту, що дає уявлення про структуру та послідовність досліджень, та детальний опис експериментальних моделей, що використовувались дисертанткою. Усі маніпуляції з гризунами були здійснені з дотримання вимог «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують в експерименті та інших наукових цілях» та були схвалені Комісією НФаУ з

біоетики (протокол № 4 від 02.10.2020 р. та протокол №9 від 03.05.2023 р.). Під час виконання роботи було використано методи, що є адекватними поставленим меті та завданням дисертаційного дослідження та відповідають сучасному науковому рівню.

У третьому розділі дисертаційної роботи автор проводить молекулярний докінг нових похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів щодо бензодіазепінового сайту ГАМК-рецептора, оцінює їхню безпечність в тестах *in vitro* за показниками цитотоксичності та генотоксичності, здійснює скринінгові дослідження вибраних похідних на анксиолітичну та антидепресивну активності, а також вивчає їхній вплив на м'язовий тонус, координацію рухів гризунів і поведінкові реакції. На основі отриманих результатів відібрано похідні МА-252, МА-253, МА-254 та МА-255 в дозах 0,75 мг/кг та 1 мг/кг для подальших досліджень вторинної фармакодинаміки.

У четвертому розділі дисертації представлено результати визначення анальгетичної активності в тесті «гарячої пластини» та на моделі «оцтовокислих корчів», а також антигіпоксичних властивостей в умовах гострої нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією. Визначено найбільш активні похідні – МА-252, МА-253 та МА-254 в дозі 1 мг/кг.

П'ятий розділ дисертаційної роботи демонструє результати створення нановолокон, завантажених похідними 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів, за допомогою технології електропрядіння та визначення їхньої фармакологічної активності в тестах, використаних для скринінгового вивчення. Найвиразніші зміни спостерігали на тлі застосування похідного МА-253, що було обрано як сполуку-лідера для подальшого вивчення.

У шостому розділі дисертанткою проведено поглиблене дослідження похідного МА-253, зокрема визначення його актопротекторної активності в тесті «плавання з навантаженням» у щурів обох статей, взаємодії зі сполуками пригнічувального та стимулювального типу дії на ЦНС (дослідження впливу на тривалість наркозного сну, викликаного етанолом, та поведінкові реакції в тесті «відкритого поля» на тлі кофеїн-бензоату натрію), встановлення

можливості розвитку толерантності до фармакологічних ефектів, визначених раніше, протягом тривалого застосування (28 днів) гризунам. Результати гострої та підгострої токсичностей представлені в цьому розділі та визначають безпечність застосування МА-253 в умовах одноразового та тривалого введення (протягом 4 тижнів).

Сьомий розділ дисертаційної роботи присвячений встановленню можливості використання напівтвердого екструзійного 3D-друку функціональних ПЕО гелів, завантажених похідним 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепіну та сухим екстрактом кропиви собачої трави, модифікованим валіном, з метою створення персоналізованих лікарських форм у подальшому.

Розділ «Аналіз та узагальнення результатів» присвячено систематизації та аргументації отриманих результатів. Авторка представляє загальну логіку всього дослідження, чітко окреслює зв'язки між отриманими в різних експериментах результатами та даними наукових джерел, а також наводить можливі механізми реалізації фармакологічної активності на тлі введення нових похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів.

Робота завершується 8 висновками, що відповідають поставленим завданням та узагальнюють результати експериментів.

Список використаних джерел оформлений згідно з чинними вимогами та відображає широке опрацювання дисертантом даних наукової літератури.

Додатки містять список публікацій здобувача та апробація роботи, повідомлення про встановлення дати подання двох заявок на винахід, акти впровадження результатів дослідження в науково-педагогічний процес кафедр закладів вищої освіти України.

Під час ознайомлення з матеріалами дисертації та аналізу наукових публікацій дисертантки не було виявлено жодних ознак академічного плагіату, фальсифікацій або інших порушень, що могли б поставити під сумнів самостійність проведеного наукового дослідження та достовірність отриманих результатів. Текст викладено українською мовою із дотриманням наукового стилю.

Але поряд з позитивною характеристикою дисертаційної роботи слід відзначити деякі зауваження і пропозиції:

Зауваження: Зустрічаються поодинокі технічні помилки (йнайчастіше, с. 42, в терапії для лікування, с. 45), помилки медичної термінології, як от: тривожні люди, кортикотропін-вивільняючий фактор (с. 35).

У розділі матеріали і методи дослідження недостатньо впорядкована послідовність викладення окремих моделей та методів, яка має відповідати змісту дисертації.

Однак, ці зауваження не знижують загального позитивного враження від дисертаційної роботи, яка є завершеним дослідженням з вагомою науковою новизною та практичною значимістю отриманих результатів.

Для проведення наукової дискусії доцільно поставити такі запитання:

1. В умовах тестів примусового плавання за Порсолт та «підвішування за хвіст» Вами встановлено, що похідні МА-253, МА-254 і МА-255 у дозах 1 мг/кг демонструють наявність вираженої антидепресивної активності, зменшуючи загальну тривалість нерухомості дослідних тварин. Як вплив триазолобензодіазепінів на ГАМК-рецептори корелює з їхньою антидепресивною дією, враховуючи, що ГАМК-ергічна система традиційно не асоціюється з антидепресивним ефектом?

2. Після формування нановолокон, завантажених досліджуваними похідними, Ви використовували їх в експериментах в формі олеогелю та тритуrowаних з лактозою. З якою метою проводили дослідження обох форм?

3. Як Ви оцінюєте можливий вплив досліджуваних похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів на розвиток залежності та толерантності в контексті їхнього тривалого використання?

Висновок про відповідність дисертації обраній спеціальності, профілю спеціалізованої вченої ради та вимогам МОН України.

З усього вищевикладеного можна зробити висновок про те, що дисертаційна робота Боцули Ірини Валеріївни за темою «Експериментальне дослідження нових похідних 1,2,3-триазоло-1,4-бензодіазепінів як

потенційних протитривожних засобів» є закінченою науковою працею. За актуальністю, науковою новизною, обсягом проведених досліджень, ступенем обґрунтованості наукових положень та рівнем впровадження одержаних результатів рецензована дисертаційна робота 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 КМУ від 12 січня 2022 року № 44, а її автор, Боцула Ірина Валеріївна, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

Опонент:

завідувач кафедри фармакології

Полтавського державного медичного університету,

доктор медичних наук, професор

Руслан ЛУЦЕНКО