

ВІДГУК

офіційного опонента, завідувачки кафедри біомедицини Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, доктора біологічних наук, професора Фалалєєвої Тетяни Михайлівни на дисертаційну роботу Молодан Юлії Олегівни на тему: «ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ ІННОВАЦІЙНОГО АЛКОКСИПОХІДНОГО 1,4-БЕНЗОДІАЗЕПІНУ В КОМБІНАЦІЇ З ФЛАВОНОЇДОМ», представлену на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія

Актуальність теми дисертації.

Запалення належить до універсальних типових патологічних процесів, що лежать в основі значної кількості гострих і хронічних захворювань. Незважаючи на широкий спектр сучасних протизапальних препаратів, їх застосування часто супроводжується побічними ефектами, такими як гастротоксичність, нефротоксичність та метаболічні порушення, і вони можуть бути недостатньо ефективними для лікування хронічних захворювань. Це підкреслює потребу в нових сполуках, які пропонують комбінований протизапальний, антиоксидантний та цитопротекторний ефект, що є важливою сферою уваги в сучасній біології.

Особливо варто відзначити дослідження використання біологічно активних речовин, які діють через різні механізми, оскільки це може призвести до потенційних синергічних ефектів. Саме такому науковому напрямку присвячена дисертаційна робота Ю.О. Молодан, у якій досліджено поєднану дію пропоксазепаму та кверцетину в умовах гострого та хронічного запалення.

Слід відзначити, що це дисертаційне дослідження є надзвичайно актуальним для сучасних українських реалій, де багато людей переживають тривалий психоемоційний стрес через тривалу війну. Хронічний стрес пов'язаний із системним запаленням низької інтенсивності, що сприяє різним проблемам зі здоров'ям, зокрема серцево-судинним і психологічним розладам. Зростаюче використання антидепресантів та анксиолітиків підкреслює необхідність нових підходів до лікування, спрямованих на боротьбу зі стресом і запаленням.

Вивчення пропоксазепаму, бензодіазепіну з мультимодальними властивостями, поряд із кверцетином, природним антиоксидантом і протизапальним засобом, може мати важливе практичне значення для післявоєнної

медичної практики в Україні. Викладене вище обґрунтовує актуальність обраного напрямку досліджень і необхідність його вивчення.

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

Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідних робіт кафедри фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти Одеського національного університету імені І. І. Мечникова: «Дослідження лікувально-профілактичних властивостей раковин молюсків Чорного моря», № ДР 0119U000499; «Дослідження механізмів розвитку патологічних станів у людини та тварин під впливом ксенобіотиків», № держ. реєстрації 0124U004566. Здобувач була співвиконавцем окремих фрагментів НДР.

Оцінка наукового рівня дисертації та наукових публікацій здобувача.

Автор методологічно правильно сформулювала мету та завдання відповідно до сформульованої теми дослідження. Для вирішення завдань та досягнення мети використані сучасні методи досліджень, такі як: експериментально-біологічні методи моделювання гострого карагінан-індукованого запалення та хронічної перхлоратної інтоксикації у щурів; морфометричні методи оцінки набрякової реакції та структурно-функціонального стану тканин; гематологічні методи дослідження, біохімічні методи визначення активності еластази, кислої фосфатази, каталази, уреази та рівня малонового діальдегіду; статистичний аналіз результатів.

Комплексне застосування цих методів дозволило вирішити поставлені завдання та отримати достовірні результати. Висновки повною мірою відповідають отриманим результатам, є обґрунтованими та володіють всіма ознаками наукової новизни.

Наукова новизна дисертаційної роботи.

У цій дисертації представлено нову експериментальну оцінку протизапальної дії алкоксипохідного 1,4-бензодіазепіну - пропоксазепаму в поєднанні з флавоноїдом кверцетином. У дослідженні використовуються моделі гострого запалення, індукованого карагінаном, та хронічної інтоксикації перхлоратами. Прогнози *in silico* показали, що перхлорати мають значний імуні-, гепато-, кардіо- та нейротоксичний потенціал, а також можливі канцерогенні й мутагенні ефекти. Взаємодія з ферментами цитохрому P450 може порушити метаболізм ксенобіотиків і посилити токсичність, тим самим виправдовуючи їх використання як запальних факторів у моделях.

ADME-аналіз пропоксазепаму засвідчив сприятливий фармакокінетичний профіль, зокрема високу прогнозовану пероральну абсорбцію. Для кверцетину було

показано прогнозовану кишкову абсорбцію та відповідність критеріям лікоподібності. Кверцетин демонструє потенційну ендокринну модуляцію запалення через взаємодію з рецепторами естрогену, а за результатами *in silico*-прогнозування AMES-токсичності кверцетину не виявлено.

Результати дослідження показують, що гостре запалення не лише викликає локалізований набряк, а й запускає системну запальну реакцію. Дослідження показало, що комбіноване фармакологічне лікування призвело до більшого пригнічення ексудативних реакцій порівняно з індивідуальним лікуванням. Було виявлено нові дані щодо імунного дисбалансу, змін показників крові та дисбіотичних порушень, що підкреслюють токсичний вплив перхлоратів переважно через пряме пошкодження, а не через пригнічення функції щитоподібної залози. Загалом, результати покращують розуміння протизапальних механізмів похідних 1,4-бензодіазепіну та потенціалу їхнього спільного використання з флавоноїдами в лікуванні хронічного запалення.

Практичне значення результатів дослідження.

Безумовно, це дуже актуальне й суспільно значуще дисертаційне дослідження, особливо в сучасних українських реаліях, і має важливе практичне значення. Уже понад чотири роки значна частина населення України перебуває в умовах тривалого психоемоційного навантаження, невизначеності, порушення сну, втрат і постійного стресу. Відомо, що хронічний стрес є одним із ключових чинників формування системного низькоінтенсивного запалення, яке лежить в основі розвитку серцево-судинних, метаболічних, гастроентерологічних, імунних та психоневрологічних порушень.

Крім того, у сучасній клінічній практиці спостерігається зростання використання антидепресантів, анксиолітиків та інших психотропних засобів. Частина цих препаратів впливає не лише на нейромедіаторні системи, а й опосередковано на імунні та запальні механізми. Саме тому пошук нових речовин або комбінованих підходів, які поєднують протизапальну, антиоксидантну, цитопротекторну та потенційно стрес-модуючу дію, є надзвичайно перспективним.

У цьому контексті дослідження пропексазепаму (як похідного бензодіазепінового ряду з мультимодальними властивостями) у комбінації з кверцетином (відомим природним антиоксидантом і протизапальним агентом) виглядає не лише експериментально цікавим, а й потенційно практично важливим для післявоєнної медицини України. Такі роботи формують наукову основу для

створення нових засобів і лікувальних схем підтримки людей із наслідками хронічного стресу, тривоги, соматизованих розладів і запальних порушень.

Пропоксазепам автор розглядає як перспективний фармакологічний засіб, який наразі проходить клінічні випробування в Україні. Експериментальні дані щодо його поєднання з кверцетином (квертуліном) можуть слугувати підґрунтям для розробки нових протизапальних, антиоксидантних і цитопротекторних препаратів із мультимодальним механізмом дії. Результати дослідження доцільно використовувати під час планування доклінічних і клінічних випробувань, а також у науковій та навчальній діяльності в галузі експериментальної фармакології.

Отже, значущість цієї дисертації виходить за межі суто біологічної або експериментальної фармакології й стосується актуальних проблем громадського здоров'я.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій.

Дисертаційна робота побудована за стандартною схемою та викладена на 174 сторінках комп'ютерного тексту і складається з анотацій, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи досліджень», 3-ох розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел, практичних рекомендацій та додатків. Дисертація ілюстрована 10 рисунками і 22 таблицями. Перелік використаних джерел містить 160 найменувань.

Експериментальні дослідження проведені на базі: Одеського національного університету імені І. І. Мечникова (кафедра фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти); Фізико-хімічного інституту ім. О. В. Богатського НАН України (відділ біомедицини).

За результатами проведених експериментальних досліджень здійснено комплексну оцінку протизапальної ефективності комбінованого застосування інноваційного алкоксипохідного 1,4-бензодіазепіну пропоксазепаму з біофлавоноїдом кверцетином, а також поглиблені уявлення щодо ролі системних та локальних порушень у патогенезі токсичної дії перхлорату калію.

Ступінь вірогідності отриманих результатів забезпечується:

- Усі експериментальні дослідження виконували відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 18 березня 1986 р., ETS № 123), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 1759-VI від 15.12.2009 р.) та «Директиви 2010/63/EU» щодо захисту тварин, які

використовуються для наукових цілей.

- необхідною тривалістю виконання дисертаційної роботи (2023-2026 р.);
- проведення дисертаційного дослідження у три етапи:

- Перший етап – проведення порівняльної оцінки протизапальної активності біофлавоноїду кверцетину та референтного нестероїдного протизапального засобу (НПЗЗ) диклофенаку натрію на моделі гострого карагінан-індукованого запалення. Тварин розподілили на три групи по п'ять тварин в кожній: 1-ша – контрольна (тваринам вводили еквівалентну кількість фізіологічного розчину), 2-га – щури, яким внутрішньочеревинно вводили кверцетин у дозі 80 мг/кг одноразово за 1 годину до моделювання запалення, 3-тя – щури, яким внутрішньочеревинно вводили диклофенак натрію в дозі 8 мг/кг одноразово за годину до індукції запалення.

- Другий етап – визначали вплив пропоксазепаму, кверцетину та їх спільного застосування на перебіг карагінан-індукованого запалення з метою оцінки синергічного ефекту та порівняння ефективності окремого й комбінованого застосування препаратів. Тварини були розділені на п'ять експериментальних груп: 1-ша – контрольна патологія, тваринам вводили фізіологічний розчин з Твін-80 (n=5), 2-га – кверцетин у дозі 80 мг/кг (n=5), 3-тя – пропоксазепам в дозі 2 мг/кг (n=5), 4-та – кверцетин 80 мг/кг + пропоксазепам 2 мг/кг (n=5) та 5-та – диклофенак натрію в дозі 8 мг/кг (n=5).

- Третій етап був присвячений оцінці протизапальної ефективності кверцетин-вмісного препарату квертулін у поєднанні з пропоксазепамом на моделі хронічного токсично індукованого запального процесу шляхом тривалої пероральної інтоксикації перхлоратом калію, що супроводжується розвитком морфофункціональних змін слизових оболонок, активацією протеолітичних ферментів, порушенням мікробіоценозу та інтенсифікацією процесу перекисного окиснення ліпідів.

- Автором використані сучасні методи дослідження: експериментально-біологічні методи моделювання гострого карагінан-індукованого запалення та хронічної перхлоратної інтоксикації у щурів; морфометричні методи оцінки набрякової реакції та структурно-функціонального стану тканин; гематологічні методи дослідження, біохімічні методи визначення активності еластази, кислій фосфатази, каталази, уреаз та рівня малонового діальдегіду; статистичні методи обробки результатів.

- Експериментальна складова дослідження ґрунтується на чітко структурованому дизайні, що відповідає принципам надійності та відтворюваності.

- Висновки й практичні рекомендації автора узагальнюють отримані результати, узгоджуються з метою та завданнями роботи й підкріплені емпіричними даними.

Таким чином, обґрунтованість наукових положень дисертації засвідчує її високий науковий рівень і практичну значущість.

Характеристика основних положень роботи.

У вступі обґрунтовано актуальність роботи та необхідність проведення дисертаційного дослідження, визначено мету й завдання роботи.

РОЗДІЛ 1 «ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ЗАПАЛЕННЯ. МОЖЛИВОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ ПОХІДНИХ 1,4 БЕНЗОДІАЗЕПІНОВОГО РЯДУ І КВЕРЦЕТИНУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)» є оглядом сучасної наукової літератури. В огляді літератури автор описує запалення як поширений патологічний процес та висвітлює роль оксидативного стресу й пероксидного ушкодження в розвитку запалення. Обговорюються сучасні варіанти фармакотерапії запалення, зокрема різні протизапальні препарати та їхні обмеження. Крім того, автор аналізує потенційні протизапальні властивості інноваційного похідного 1,4-бензодіазепіну, пропоксазепаму. Сукупність експериментальних і теоретичних даних дозволяє розглядати кверцетин як перспективний протизапальний і цитопротекторний агент з мультимодальним механізмом дії. Поєднання його антиоксидантних, мембраностабілізуючих і сигнально-модуючих властивостей створює наукове підґрунтя для використання кверцетину як компонента комбінованих фармакологічних засобів, спрямованих на корекцію запалення та оксидативного стресу.

У кінці огляду літератури автор узагальнює та робить висновок першого розділу в якому зазначає, що виходячи з сучасних протизапальних стратегій, спрямованих на багатоланкову корекцію запального процесу з урахуванням ролі оксидативного стресу та порушень клітинного метаболізму, можна припустити, що полімодальний характер анальгетичної, протисудомної та протизапальної дії пропоксазепаму у поєднанні з антиоксидантними, мембраностабілізуючими, антиульцерогенними і сигнально-модуючими властивостями кверцетину, може стати ефективною та безпечною композицією для гальмування запального генезу.

У РОЗДІЛІ 2 «МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ» описано дизайн дослідження, використані методи, а саме експериментально-біологічні методи моделювання гострого карагінан-індукованого запалення та хронічної перхлоратної інтоксикації у щурів; морфометричні методи оцінки набрякової

реакції та структурно-функціонального стану тканин; гематологічні методи дослідження, біохімічні методи визначення активності еластази, кислої фосфатази, каталази, уреаз та рівня малонового діальдегіду; статистичні методи обробки результатів. Експериментальні дослідження проведені на базі: Одеського національного університету імені І. І. Мечникова (кафедра фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти) та Фізико-хімічного інституту ім. О. В. Богатського НАН України (відділ біомедицини).

РОЗДІЛ 3 «ПРОГНОЗУВАННЯ ТОКСИЧНОСТІ ПЕРХЛОРАТИВ, ФАРМАКОКІНЕТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ (ADME) ПРОПОКСАЗЕПАМУ ТА КВЕРЦЕТИНУ (ДОСЛІДЖЕННЯ *IN SILICO*)» присвячений прогнозуванню токсичності перхлорату калію методами комп'ютерного моделювання та оцінці ADME-характеристик пропоксазепаму за допомогою програмного забезпечення QikProp. Проведено докінг-аналіз кверцетину, як метод прогнозування його протизапальної дії. Сукупність результатів *in silico* підтверджує молекулярне обґрунтування використання кверцетину та пропоксазепаму для подальших експериментальних досліджень їх протизапальної та антиоксидантної ефективності *in vivo*.

У РОЗДІЛІ 4 «ПРОТИЗАПАЛЬНА ДІЯ КОМБІНАЦІЇ ПРОПОКСАЗЕПАМУ ТА КВЕРЦЕТИНУ НА МОДЕЛІ ГОСТРОГО КАРАГІНАНОВОГО ЗАПАЛЕННЯ» було встановлено, що комбіноване застосування кверцетину та пропоксазепаму забезпечувало більш значне пригнічення розвитку набряку (на 26,3 %) порівняно з кожною з монокорекцій, що проявлялося більш вираженим зниженням висоти ураженої кінцівки на всіх часових точках спостереження.

РОЗДІЛ 5 «ПРОТИЗАПАЛЬНА, АНТИУЛЬЦЕРОГЕННА ТА АНТИОКСИДАНТНА ЕФЕКТИВНІСТЬ КВЕРТУЛІНУ ТА ПРОПОКСАЗЕПАМУ У СЛИЗОВИХ ОБОЛОНКАХ ТРАВНОГО ТРАКТУ ЩУРІВ ПРИ ІНТОКСИКАЦІЇ ПЕРХЛОРАТОМ КАЛІЮ» повідомляє, що у слизових оболонках травного тракту інтоксикація перхлоратом викликала поширені локальні запальні зміни, що підтверджувалося використаними маркерами запалення. Комбіноване застосування квертуліну з пропоксазепамом продемонструвало виражений коригувальний вплив на системні та локальні прояви перхлорат-індукованого запалення. Комплекс сприяв нормалізації загального стану тварин, гематологічних і біохімічних показників, зменшенню інтенсивності оксидативного стресу та запальних процесів у слизових оболонках травного тракту. Встановлено його антиоксидантний, протизапальний, гастропротекторний та антидисбіотичний ефекти, які були більш

вираженими порівняно з L-тироксином за більшості досліджуваних показників. Отримані результати свідчать про перспективність використання цієї комбінації для комплексної фармакологічної корекції запальних ушкоджень.

РОЗДІЛ 6 «АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ»
узагальнює власні результати дослідження автора та порівнює їх із наявною науковою літературою за темою дослідження. Слід зазначити, що узагальнююча схема є корисною та інформативною.

У роботі сформульовано 9 висновків, що відповідають поставленим цілям дослідження та розкривають його наукову новизну. Висновки повністю відтворюють зміст дисертаційного дослідження й ґрунтуються на достовірному фактичному матеріалі, отриманому автором.

Далі, на основі власних досліджень, автор розробила практичні рекомендації та зазначає, що результати дисертаційного дослідження можуть бути використані у навчальному процесі та науково-дослідній діяльності у галузі експериментальної фармакології. Дисертантка узагальнює, що пропоксазепам розглядається як багатообіцяючий фармакологічний засіб, який наразі проходить клінічні випробування в Україні, тому отримані експериментальні дані щодо його комбінованого застосування з кверцетином (квертуліном) можуть бути використані для подальшого обґрунтування створення нових протизапальних, антиоксидантних і цитопротекторних композицій із мультимодальним механізмом дії.

Робота закінчується списком використаної літератури (160 джерел) та додатком, у якому наведено публікації автора.

Повнота викладення матеріалів дисертації в роботах, опублікованих автором.

За результатами дисертації опубліковано 19 наукових праць: 7 статей у наукових фахових виданнях України, 1 стаття у журналі, що входить до наукометричних баз Scopus та Web of Science та 11 тез доповідей у матеріалах конференцій.

Основні положення дисертаційної роботи були оприлюднені на: V науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 2023); міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні тенденції розвитку науки, освіти, технології та суспільства» (Полтава, 2023); XI міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми фармакології та медицини» (2023); всеукраїнській науково-практичній конференції з 30

міжнародною участю «Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку» (Одеса, 2024); IX International Scientific and Practical Conference (2024); VI науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 2024); VII науково-практичній internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (Харків, 2024); VII науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 2025); XXIV-х читаннях ім. В. В. Підвисоцького (Одеса, 2025); у II International Scientific and Practical Conference (Vancouver, Canada, 2025); міжнародному науково-практичному форумі «Медицина сьогодення і майбутнього: тенденції, виклики та перспективи розвитку системи охорони здоров'я» (2025).

Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, а також запитання до здобувача.

Оцінюючи дисертаційну роботу МОЛОДАН Юлії Олегівни на тему: «ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ ІННОВАЦІЙНОГО АЛКОКСИПОХІДНОГО 1,4-БЕНЗОДІАЗЕПІНУ В КОМБІНАЦІЇ З ФЛАВОНІДОМ» в цілому позитивно, необхідно відзначити деякі зауваження і питання, які виникли в процесі рецензування такої складної та глибокої роботи, проте вони не мають принципового значення для її загальної характеристики.

Зауваження та запитання до дисертаційної роботи:

1. Які механізми, на Вашу думку, лежать в основі синергізму пропоксазепаму та кверцетину?
2. У розділі *in silico* досліджень бажано було б чіткіше показати практичний зв'язок прогнозованих параметрів із подальшими *in vivo* експериментами.
3. У висновках автор наводить відсотки змін, проте не зазначає, чи ці зміни є статистично значущими ($p < 0,05$). Наприклад, у 4-му та 6-му висновках. Така подача матеріалу не дає можливості оцінити, чи ці зміни є статистично значущими.
4. Окремі таблиці перевантажені цифровими даними й могли б бути замінені більш наочними графічними формами подання.
5. Робота має важливе практичне значення, тому доцільно розробити практичні рекомендації.

6. У дисертаційній роботі зустрічаються поодинокі стилістичні та граматичні помилки.

Висловлені зауваження не знижують позитивної оцінки дисертації в цілому, а також розроблених автором основних наукових положень, висновків та отриманих результатів проведених досліджень.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам. Дисертаційна робота МОЛОДАН Юлії Олегівни на тему: «ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ ІННОВАЦІЙНОГО АЛКОКСИПОХІДНОГО 1,4-БЕНЗОДІАЗЕПІНУ В КОМБІНАЦІЇ З ФЛАВОНОЇДОМ», яка обґрунтовує протизапальну ефективність комбінованого застосування кверцетину та пропоксазепаму за умов гострих і хронічних запальних порушень у щурів, подана на здобуття ступеня доктора філософії, повністю відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» (із змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства освіти і науки № 759 від 31.05.2019), вимогам освітньо-наукової програми, яку завершила здобувачка і 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 року № 44 (із змінами), що висуваються до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії, та рекомендується до захисту з метою присудження здобувачці МОЛОДАН Юлії Олегівні ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Офіційний опонент:
завідувачка кафедри біомедицини
Навчально-наукового центру
«Інститут біології та медицини»
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка,
доктор біологічних наук, професор

Катяна ФАЛАЛЄЄВА

Підпис з
Вчений секретар
КАРАУЛЬНИК

до-05



Handwritten signature of Kateryna Falaleeva.