

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора фармацевтичних наук, завідувача кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського Марчишин Світлани Михайлівни на дисертаційну роботу Гаврилова Ігната Олександровича за темою «Експериментальне дослідження психотропних властивостей нового нонапептиду – фрагмента нейропептиду Y», подану до спеціалізованої вченої ради ДФ 64.605.041 при Національному фармацевтичному університеті МОЗ України, що утворена наказом Національного фармацевтичного університету від 03.10.2022 р. № 62-Адм, для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація»

Актуальність обраної теми дисертації. Вже не перший рік ВООЗ наголошує на загостренні проблеми психічного здоров'я населення. Нервово-психічні розлади погіршують якість життя хворого, є однією з причин інвалідизації та передчасної смертності. Ці захворювання не є лише індивідуальною проблемою пацієнта, вони є суттєвим тягарем системи охорони здоров'я та всієї економіки країни, тому що вражають найрізноманітніші категорії населення, в тому числі й працездатне. Вже тривалий час Україна посідає перші місця за числом психічних розладів у Європі. Воєнні конфлікти, епідемії, економічні кризи, стихійні лиха, гуманітарні катастрофи – це обмежений перелік явищ, що можуть загострювати ризики розвитку проблем психічного здоров'я. Тому, навіть не фахівець, що просто слідкує за світовими новинами, може зробити невтішний прогноз щодо майбутньої поширеності психічних розладів в Україні та світі в цілому.

Поширеність та медико-соціальна значущість психічних та неврологічних розладів спонукають до пошуку нових високоефективних методів лікування, оскільки наявні підходи не завжди є оптимальними та потребують вдосконалення. Привертає увагу активний ріст зацікавленості й фінансування фармацевтичних та біотехнологічних розробок пептидних препаратів. Так, близько 140 пептидних препаратів зараз перебувають у клінічних випробуваннях та більш ніж 500 на стадії доклінічних досліджень. Значна частина асортименту

пептидних препаратів розроблена для лікування метаболічних або імунологічних порушень, але існують і такі, що використовують при патологіях ЦНС. Препарати пептидного дизайну мають характерні позитивні параметри, як висока селективність, ефективність та переносимість, що підігрують зацікавленість у розробках таких засобів. Незважаючи на перспективність пептидергічних препаратів, необхідна потужна доказова база їх ефективності для подальшого широкого впровадження. Так, незважаючи на тривалий досвід застосування пептидних препаратів для лікування патологій ЦНС, доведення їх ефективності потребує поглибленого клінічного дослідження. Тому залишається актуальним пошук і доведення ефективності нових пептидних засобів для лікування розладів ЦНС.

У зв'язку з вищезазначеним, робота Гаврилова Ігната Олександровича, яка присвячена дослідженню психотропних властивостей нового нонапептиду – фрагмента нейропептиду, є актуальною та має науково-практичне значення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету МОЗ України «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956; термін виконання НДР: 2014-2023 рр.), у яких дисертант є співвиконавцем.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність.

Дисертаційна робота виконана на сучасному науковому рівні з використанням достатнього обсягу даних експериментальних досліджень. Використані у роботі методи є адекватними поставленим завданням. Кількість проведених дослідів є достатньою для достовірної аргументації основних положень дисертаційної роботи. Кількість тварин є достатньою для обґрунтування результатів та підтвердження їх достовірності. Результати мають достатній рівень обґрунтованості оскільки математична та статистична обробка даних проведені коректно. Висновки аргументовані, логічно витікають із наданих матеріалів, містять вагомні елементи новизни та мають науково-

практичне значення. Отримані дисертантом результати достатньо оприлюднені в матеріалах наукових форумів та наукових виданнях.

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертаційній роботі здобувача вперше теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено психотропні властивості нового нонапептиду, що є модифікованим фрагментом кінцевої ділянки нейропептиду Y, а саме анксиолітичні, ноотропні, антидепресантні та актопротекторні. Вперше встановлено рецепторні та біохімічні механізми дії нонапептиду NP9, а саме участь бензодіазепінових рецепторів; здатність підвищувати вміст глутамату та аспартату й знижувати вміст гліцину та ГАМК у гомогенаті головного мозку мишей. Уперше встановлена здатність нонапептиду взаємодіяти зі сполуками збуджувального та пригнічувального типу дії.

Автором уперше експериментально доведено анксиолітичні, ноотропні, актопротекторні та антидепресантні властивості нонапептиду NP9.

Вперше досліджена гостра токсичність нонапептиду.

Новизна проведених досліджень захищена патентом України на корисну модель № 148111 від 07.07.2021 та патентом України на винахід № 125920 від 06.07.2022.

Практичне значення одержаних результатів. Робота Гаврилова Ігната Олександровича є експериментальним дослідженням, результатами якого обґрунтовано доцільність створення нового лікарського засобу на основі оригінального нонапептиду – модифікованого аналога кінцевого фрагменту нейропептиду Y, для фармакорекції тривожних, когнітивних і депресивних розладів шляхом інтраназального застосування зазначеної сполуки.

Дисертантом запропоновано нові перспективи впровадження досліджуваного нонапептиду, що відображено в інформаційному листі МОЗ України: «Інноваційні перспективи впровадження у медичну практику нонапептиду з інтраназальним шляхом застосування як сполуки, що має ноотропну, анксиолітичну, антидепресивну та актопротекторну активність» (видано за №40–2021 від 22.12.2020 р.).

Результати дослідження нонапептиду NP9 впроваджено в науково-

педагогічний процес на 4 профільних кафедрах закладів вищої освіти України.

Основний зміст дисертації та його оцінка. Дисертація Гаврилова Ігната Олександровича структурована у відповідності до вимог МОН України. Робота викладена на 179 сторінках машинописного тексту та складається з анотації українською та англійською мовами, списку друкованих праць, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи досліджень», п'яти розділів власних експериментальних досліджень, розділу «Аналізу та узагальнення результатів дослідження», висновків, списку використаних джерел літератури джерел, що містить посилання на 239 джерел (24 – кирилицею, 215 – латиницею) та додатків. Дисертація ілюстрована 23 таблицями та 4 рисунками.

Анотація оформлена згідно з чинними вимогами.

У **вступі** обґрунтовано актуальність наукового напрямку, викладено мету і завдання, наукову новизну і практичне значення отриманих результатів та описано особистий внесок дисертанта у виконання дисертаційної роботи, перераховано форуми, де проведена апробація результатів роботи, наведено кількість публікацій за матеріалами дисертації, її об'єм і структуру.

Розділ перший (огляд літератури) складається з трьох підрозділів. Спираючись на сучасні, джерела літератури, в огляді автором детально охарактеризовано сучасний ринок пептидних препаратів для лікування захворювань ЦНС, фізіологічні та фармакологічні властивості нейропептиду Y, що є джерелом натхнення при розробці нонапептиду NP9, та теоретично обґрунтовано структуру нового пептидного препарату на його основі. Розділ написаний на високому науково-методичному рівні з критичним аналізом сучасних джерел наукової літератури.

У **другому розділі** «Матеріали та методи дослідження» наведено характеристику експериментальних тварин, використаних сполук та препаратів порівняння, використаних експериментальних моделей та методів статистичної обробки даних. Наведено графічне зображення загального дизайну дослідження.

Кількість використаних тварин (316 білих рандомбредних мишей обох статей та 120 білих рандомбредних щурів обох статей) при проведенні досліджень була достатньою для одержання обґрунтованих результатів. Усі

експериментальні протоколи були схвалені висновком комісії НФаУ з біоетики (протокол № 3 від 20 березня 2019 р.). Використані методи є адекватними поставленим меті та завданням дисертаційного дослідження та відповідають сучасному науковому рівню.

У **третьому розділі** дисертації наведено результати дослідження нонапептиду NP9 на наявність анксиолітичних властивостей. У тестах «Відкрите поле» та «Піднесений хрестоподібний лабіринт» на щурах дисертантом було встановлено анксиолітичні властивості у нонапептиду NP9 за інтраназального шляху введення. Показано, що анксиолітична дія реалізується активацією орієнтовно-дослідницьких поведінкових реакцій без седатії, що відрізняє дану сполуку від більшості транквілізаторів. Нонапептид NP9 в діапазоні доз 0,05-0,1 мг/кг демонструє виразну дозозалежну анксиолітичну активність. Анксиолітичні властивості відтворювалися при дослідженнях на мишах. Поглиблене дослідження на жорсткій моделі конфліктної ситуації за Vogel на щурах підтвердило наявність анксиолітичних властивостей, що характеризуються збільшенням кількості караних спроб взяття води. За виразністю ефекту NP9 не поступався бензодіазепіновому анксиолітику гідазепаму.

У **четвертому розділі** наведено результати вивчення ноотропних та антигіпоксичних властивостей нонапептиду NP9. Його ноотропна дія була досліджена у тесті «Умовний рефлекс пасивного уникнення» в інтактних мишей та на тлі скополамін-індукованої амнезії. Дисертантом також було досліджено вплив нонапептиду NP9 на фази пам'яті в мишей, на когнітивні функції в аверсивних умовах тесту екстраполяційного вивільнення в щурів, вплив на просторову пам'ять та навчання щурів у тесті «Водний лабіринт Морріса». Дослідження антигіпоксичних властивостей нонапептиду проведено на моделі нормобаричної гіпоксії з гіперкапнією. Доведено, що нонапептид NP9 є перспективним для подальшого вивчення як засобу для лікування когнітивних порушень та терапії посттравматичного стресового розладу.

П'ятий розділ дисертант присвятив дослідженню спектру психотропних властивостей нонапептиду NP9: антидепресантних, впливу на фізичну

витривалість у мишей та взаємодії зі сполуками збуджувальної та пригнічувальної дії.

Антидепресантну активність нонапептиду NP9 дисертант вивчав, використовуючи тест «Підвішування мишей за хвіст». Встановлено, що у даному тесті на мишах нонапептид NP9 за інтраназального введення в діапазоні доз 0,04-0,4 мг/кг виявляв дозозалежний антидепресантний вплив. На моделі резерпін-індукованої депресії у щурів антидепресантний ефект нонапептиду NP9 практично не спостерігався. Автором зроблено висновок про слабку антидепресантну активність пептиду NP9.

Вплив на фізичну витривалість вивчено в тесті примусового плавання з навантаженням. Встановлено, що фізична витривалість мишей при плаванні до виснаження під впливом нонапептид NP9 збільшувалась у 2,5 рази щодо контролю.

Взаємодія нонапептиду зі сполуками пригнічувального типу дії досліджували з використанням етанолу та натрію тіопенталу. Моделі пентилентетразолових та тіосемікарбазидних судом у мишей використано автором для вивчення взаємодію пептиду NP9 зі сполуками, що збуджують ЦНС.

У проведених дослідженнях дисертант показав, що нонапептид NP9 не взаємодіє зі пентилентетразолом і тіосемікарбазидом, тобто зі сполуками, які збуджують ЦНС, та не впливає на депримуєчу дію етанолу, проте пришвидшує входження та збільшує тривалість тіопенталового наркозу, що може вказувати на його ГАМК-позитивні властивості. Таким чином, пептид NP9 не виявляє небезпечних взаємодій зі сполуками, що збуджують або пригнічують ЦНС.

У шостому розділі дисертант наводить результати вивчення рецепторних та нейрохімічних механізмів психотропної дії нонапептиду NP9 у дозі 0,2 мг/кг за інтраназального введення, тобто рецепторних механізмів анксиолітичної дії та впливу на вміст нейроактивних амінокислот у головному мозку.

Автор приходять до висновку про долученність бензодіазепінових рецепторів до реалізації анксиолітичного ефекту NP9, оскільки селективний антагоніст бензодіазепінових рецепторів флумазеніл усуває анксиолітичний ефект нонапептиду.

Дисертантом також показано, що триденне інтраназальне введення NP9 підвищувало вміст глутамату та аспартату, а також знижувало вміст гліцину та ГАМК у гомогенаті головного мозку мишей без патології, що може свідчити про аміноацидергічну складову біохімічних механізмів дії NP9.

Сьомий розділ дисертації присвячено визначенню гострої токсичності нонапептиду NP9 за двох шляхів введення. Доведено, що досліджувана речовина не спричиняє гострих токсичних реакцій у діапазоні доз 500-5000 мг/кг за умов однократного внутрішньошлункового та у діапазоні доз 100-1000 мг/кг при внутрішньоочеревинному шляхах введення. Це дозволяє стверджувати, що NP9 є нешкідливою сполукою.

У розділі «**Аналіз та узагальнення результатів досліджень**» проведена ґрунтовна систематизація результатів, проаналізовано та зіставлено одержані у різних розділах результати. Автор представляє загальну логіку всього дослідження та чітко окреслює зв'язки між отриманими в різних експериментах результатами.

Дисертантом сформульовано вісім загальних висновків, які відповідають меті та поставленим завданням дослідження, обґрунтовані та аргументовані статистичним аналізом, що характеризує високий методичний рівень та завершеність роботи.

Список використаних джерел наведено у порядку згадування в тексті дисертаційної роботи, оформлено за чинними вимогами, містить 239 джерел, з яких кирилицею надруковано 24, латиницею – 215. 54 % цитованих робіт датовано глибиною більше 10 років.

Повнота викладу наукових положень дисертації в наукових працях. Основні положення дисертаційної роботи викладено у 19 наукових працях, зокрема у 8 статтях (з них 6 статей у фахових журналах, рекомендованих МОН України, 2 опубліковано у виданні, що входить до міжнародної наукометричної бази Scopus, 1 – у зарубіжному фаховому виданні), у 8 тезах доповідей, 1 інформаційному листі. Одержано 1 патент України на корисну модель та 1 патент України на винахід.

Публікації висвітлюють основні положення усіх розділів дисертаційної роботи.

Істотних недоліків у дисертаційній роботі не виявлено. Робота написана логічно з дотриманням існуючих вимог щодо структури, змісту та оформлення. Але у дисертації наявні поодинокі технічні помилки, по тексту роботи зустрічаються окремі невдалі стилістичні вирази.

Поряд з позитивними характеристиками роботи необхідно відзначити деякі зауваження та пропозиції:

1. На мою думку, у розділі, де наведено результати експериментальних досліджень анксиолітичних, ноотропних, антигіпоксичих та інших властивостей нонапептиду NP9, не було необхідності наводити фрагменти відповідних методик, а повністю подати методики у другому розділі «МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ».

2. Розділ 7 складає лише 1,5 сторінки машинописного тексту. Вважаю, що результати цього розділу можна було показати як підрозділ будь-якого іншого розділу дисертаційної роботи.

Але, вказані зауваження не впливають на загальну високу оцінку виконаної роботи і не зменшують її наукової та практичної цінності.

При ознайомленні з дисертаційною роботою виникли запитання, які доцільно обговорити в ході наукової дискусії:

1. Поясніть, будь ласка, чому Ви вибрали інтраназальний шлях введення нонапептиду NP9.
2. Чи виявляли Ви подразнювальну дію пептиду на слизові оболонки при інтраназальному введенні?
3. Як забезпечувалась точність дозування пептиду при інтраназальному введенні?

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

Дисертаційна робота Гаврилова Ігната Олександровича за темою: «Експериментальне дослідження психотропних властивостей нового нонапептиду – фрагмента нейропептиду Y» є завершеним науковим дослідженням. У дисертаційній роботі не виявлено академічного плагіату. За

актуальністю, новизною, практичним значенням отриманих результатів, ступенем обґрунтованості висновків 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 Гаврилов Ігнат Олександрович заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

Офіційний опонент:

завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою Тернопільського
національного медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України,
д. фарм. н., професор



Марчишин С. М.



Особистий підпис _____

завіряю _____

ректора з кадрових питань
Тернопільського національного
медичного університету

