

О Т З Ы В

официального оппонента на диссертационную работу Павловой Аллы Викторовны
«Изучение производных природных монотерпеноидов в качестве основы для создания
высокоэффективных противопаркинсонических и анальгетических лекарственных средств»
на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 3.3.6.
фармакология, клиническая фармакология

Актуальность. Ряд природных монотерпеноидов (МТ) проявляют выраженную
антисудорожную, противопаркинсоническую и анальгетическую активности. В то же время,
их негативные побочные эффекты на нервную систему и желудочно-кишечный тракт
снижены по сравнению с существующими препаратами. Это позволяет рассматривать МТ в
качестве потенциальных фармакологических средств нового поколения для терапии болезни
Паркинсона, болей и судорог. Изучение психотропных свойств различных природных МТ и
их производных, а также изучение связи структуры МТ с их фармакологической активностью
является важной задачей фундаментальной и медицинской фармакологии. Поэтому,
исследование Павловой А.В., посвященное изучению противопаркинсонической и
анальгетической активностям производных (1R,2R,6S)-3-метил-6-(проп-1-ен-2-ил) циклогекс-
3-ен-1,2-диола (далее просто диола), несомненно, является актуальным и важным для
фундаментальной и медицинской фармакологии.

Основная оригинальность и преимущество исследования Павловой А.В. заключается в том,
что оно выполнено на стыке психофармакологии и органической химии в тесном
сотрудничестве с высоко квалифицированными химиками-органиками, способными
синтезировать соединения заданной структуры. Это обстоятельство позволило автору
изучить влияние структуры соединений на их противопаркинсоническую и анальгетическую
активности.

Структура диссертационной работы. Диссертация представлена на 276 страницах и включает
введение, обзор литературы (гл.1), материалы и методы (гл.2), результаты и их обсуждение
(гл.3), заключения, выводов, списка сокращений и списка литературы (426 источников).

Работа иллюстрируется оригинальными 29 рисунками и 60 таблицами.

Введение. В этом разделе Алла Викторовна детально обосновывает актуальность, новизну и
оригинальность исследования, формирует цель и задачи. Раздел написан ясно и никаких
вопросов по нему не возникает.

Обзор литературы. Включает 76 страниц и состоит из 3 содержательных разделов. Первый раздел посвящен этиологии, механизмам и терапии болезни Паркинсона (БП). Кратко рассматриваются некоторые факторы риска БП. К сожалению, в данном разделе автор ограничивается описанием моделей фармакологического паркинсонизма поскольку в работе используется одна из фармакологических моделей - введение МФТП. Это хорошая модель, но она имеет ряд ограничений, т.к. моделирует только последствия гибели ДА нейронов – последнюю стадию БП. Второй раздел посвящен механизмам боли и действию известных анальгетиков. Этот раздел написан солиднее первого. Однако, автор не упоминает о роли субстанции П в механизме передачи боли и в механизме действия опиатов. Самой интересной и оригинальной частью обзора является фармакология монотерпеноидов, к тому же она наиболее близка к теме работы. Этот (третий) раздел можно рекомендовать опубликовать как самостоятельный обзор. Из обзора Аллы Викторовны видно, что некоторые из этих соединений могут обладать противопаркинсонической и анальгетической активностями, однако эти вопросы были изучены недостаточно, не ясна связь между химической структурой и фармакологической активностью. Из данного раздела следует обоснование актуальности и важности проводимого исследования. Однако в конце обзора литературы не хватает четко сформулированного перехода к обоснованию выбора проблемы, задач и объектов.

Материалы и методы. В данной главе представлены химические структуры 76 синтезированных в НИОХ СО РАН производных (1R,2R,6S)-3-метил-6-(проп-1-ен-2-ил) циклогекс-3-ен-1,2-диола и ряда других МТ, которые исследовались на их противопаркинсоническую (6-32) и анальгетическую (33-76) активности. Исследования проведены на мышах двух линий и крысах. Выбор организма и линии в каждом случае обосновывается спецификой эксперимента. Впечатляет набор моделей и методов. Петрова А.В. использовала 5 вариантов модели БП, вызванной в/б введением нейротоксина МФТП: однократное, введение в течение 3, 10 и 30 дней и классическую схему (4 введения с интервалом в 2 ч). Дозы нейротоксина были взяты из литературы или оптимизированы автором. Исследуемые соединения всегда вводили перорально. Протоколы введения препаратов в каждом эксперименте обоснованы. Противопаркинсонический эффект препаратов оценивали по влиянию на двигательную активность и выживаемость животных, тогда как анальгетический эффект оценивали в общепризнанных тестах «уксусные корчи» и «горячая пластинка». Концентрацию дофамина определяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Потенциальный токсический эффект соединений оценивали

стандартными методами. Участие различных медиаторных систем в механизме действия исследованных соединений проводили по способности антагонистов рецепторов блокировать эффекты исследованных соединений. Иными словами, все используемые методики корректны и соответствуют общепринятым стандартам. Авторы использовали t-статистику Стьюдента для параметрических данных и U-статистику Манна-Уитни для непараметрических данных.

Результаты и обсуждение. В главе приводятся результаты 16 экспериментов по изучению фармакологических и токсикологических характеристик исследуемых соединений, которые можно разделить на 2 группы. Первую группу составляли эксперименты 1-14 по изучению противопаркинсонических и токсических свойств (1R,2R,6S)-3-метил-6-(проп-1-ен-2-ил) циклогекс-3-ен-1,2-диола, влияния структурных изменений его молекулы на противопаркинсоническую активность а также выяснение предполагаемых механизмов его действия. Данное соединение было выбрано в предварительном исследовании (эксперимент 1) на основании его способности снижать смертность, вызванную введением коразола и никотина. В качестве препарата сравнения был выбран предшественник дофамина L-ДОФА, который широко используется в клинике для купирования симптоматики БП. Оказалось, что диол обладает низкой токсичностью и в отличие от L-ДОФА не влияет на двигательную и исследовательскую активности. В то же время, это соединение усиливает негативные эффекты L-ДОФА на поведение. Самыми важными и интересными результатами данных экспериментов была демонстрация выраженной противопаркинсонической активности диола в 5 вариантах модели БП, вызванной МФТП, а именно снижение смертности и купированное нарушение двигательной и исследовательской активностей, а также предотвращает вызванное МФТП снижение уровня дофамина в стриатуме. Автор показала ключевую роль двух двойных связей и положения двух гидроксильных групп в кольце на противопаркинсоническую активность. Введение содержащих гетероатомы заместителей в положение 9 боковой цепи подавляло, тогда как введение алифатического или тиоалифатического заместителей в положение 9 не влияло на противопаркинсоническую активность диола. Павлова А.В. выявила метаболит диола – транс-моноэпоксид – и показала его противопаркинсоническую активность. Результаты этих экспериментов позволяют рассматривать диол как перспективное соединение для терапии БП. Кроме того, диол обладает выраженной антикаталептической (в двух тестах) и анальгетической (в двух тестах) активностями, что еще раз демонстрирует перспективность его как нового фармакологического средства.

Вторую группу составили эксперименты 15 и 16 по изучению анальгетической активности и участия различных медиаторных систем в механизме анальгетической активности, соответственно, для различных производных монотерпенового ряда. Были исследованы 44 различных производных (33-76). Все эти соединения были разделены на три структурные группы 1) полученные путем взаимодействия диола или эпоксида вербенола с ароматическими альдегидами, содержащими три метокси группы (33-40), 2) производные диола и ароматических альдегидов с различными заместителями в ароматическом кольце (41-52), 3) производные изопулегола и гетероциклических заместителями (53-65), 4) содержащие диазаадамантовый и монотерпеноидный фрагменты (66-76). Из исследованных 44 соединений анальгетическая активность в тестах «уксусные корчи» и «горячая пластинка» была обнаружена у 26 и 11, соответственно. Это позволило до некоторой степени установить связь между структурой и анальгетической активностью, а также выбрать для дальнейшего изучения 4 перспективные соединения (44, 45, 54, 66), проявляющие анальгетическую активность в двух тестах и обладающие низкой острой токсичностью. Для этих соединений была исследована зависимость эффекта от дозы, а для соединения 54 и от времени воздействия. Очень интересное исследование проведено по изучению потенциальных медиаторных систем, вовлеченных в анальгетический эффект данных соединений по способности агонистов рецепторов медиаторов блокировать данный эффект. Было показано участие канбиноидной системы (CB1 рецепторы) в механизме анальгетического действия всех 4 соединений в тесте «уксусные корчи». В то же время, участие 5-HT₂, 5-HT₃, α₂ адренергических, мускариновых, D₂, D₁ рецепторов в анальгетическом действии было показано только для некоторых соединений (Табл.3.59).

В целом проделана огромная экспериментальная работа, полученные данные представлены в 7 рисунках и 59 таблицах, корректно проанализированы и не вызывают сомнения.

Заключение. В этом разделе Павлова А.В. подводит краткий итог полученным результатам. Это по сути сокращенный пересказ результатов с подчеркиванием их новизны и значимости. Этот раздел написан простым языком и очень полезен для общего представления о проделанной работе.

Выводы. Выводы соответствуют результатам и связаны с поставленными в исследовании задачами.

Реферат содержат основные результаты работы, очень содержателен и легче воспринимается чем сама диссертация.

Замечания. При прочтении диссертации возник ряд вопросов и замечаний.

1. Обзор литературы заточен под экспериментальный дизайн и полученные результаты и поэтому некоторые аспекты БП (генетические факторы) и боли (роль субстанции П) затронуты вскользь или совсем не рассмотрены. Однако, это нельзя рассматривать как серьезный дефект, т.к. эти вопросы не имеют прямого отношения к теме исследования.
2. В обзоре литературы отсутствует заключительная часть, которая бы на основании литературы показала бы необходимость исследования, нерешенные вопросы и логически подводила бы к цели и задачам исследования.
3. В тексте, таблицах и рисунках отсутствуют значения критериев (t-и U-), а приводятся только вероятности. Этого, конечно достаточно для доказательства эффекта, но правила международных публикаций требуют представления также значений критериев и степеней свободы.
4. На рисунках 3.7, 3.9 и 3.10 не указаны ошибки средних. На рисунке 3.6 отсутствует подпись оси абсцисс.
5. Непонятно, почему автор использует парные сравнения с выбранной референтной группой (контроль или МФТП), а не использует ANOVA с последующим множественным post hoc сравнением. Это позволило бы исключить возможный вопрос о коррекции Бонферрони.
6. Хотелось бы усилить раздел Заключение, включив в него спекуляции о возможных молекулярных мишенях исследуемых соединений. Существующие информационные методы это позволяют.
7. В диссертационной работе отмечено несколько опечаток. Однако их число мало для такого большого объема текста.

Несмотря на возникшие замечания, диссертационная работа Павловой Аллы Викторовны выполнена на уровне, соответствующим самым высоким международным стандартам, и составляет хорошее впечатление. Она выполнена на стыке фармакологии и органической химии и может служить эталоном подобного рода исследований. Объем материала поражает воображение. Огромный экспериментальный материал, полученный Павловой А.В., представлен в 19 публикациях в престижных международных журналах, два из которых входят Q1, один – в Q2. Все они входят в список ВАК. Также результаты представлены в 11 патентах.

