

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧЕРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
НОВОСИБИРСКИЙ ИНСТИТУТ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ ИМ. Н.Н. ВОРОЖЦОВА
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

ПАВЛОВА АЛЛА ВИКТОРОВНА

**ИЗУЧЕНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ПРИРОДНЫХ МОНОТЕРПЕНОИДОВ В
КАЧЕСТВЕ ОСНОВЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫХ
ПРОТИВОПАРКИНСОНИЧЕСКИХ И АНАЛЬГЕТИЧЕСКИХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

14.03.06. фармакология, клиническая фармакология

Диссертация на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Научный консультант:
доктор биологических наук, профессор
Толстикова Татьяна Генриховна

Новосибирск-2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	16
1.1. Болезнь Паркинсона. Лечение болезни Паркинсона и паркинсонического синдрома.....	16
1.1.1. Механизмы развития болезни Паркинсона и паркинсонического синдрома.....	16
1.1.2. Лечение болезни Паркинсона и паркинсонического синдрома.....	25
1.2. Болевой синдром и принципы его лечения	39
1.2.1. Опиоидная система.....	41
1.2.2. Каннабиноидная система.....	45
1.2.3. Лечение болевого синдрома.....	51
1.3. Фармакологические свойства монотерпеноидов.....	73
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	93
2.1. Экспериментальные животные.....	93
2.2. Исследуемые соединения.....	93
2.3. Фармакологические модели, тесты и методы исследования.....	102
2.3.1. Тесты, используемые для оценки влияния исследуемых соединений на центральную нервную систему.....	103
2.3.2. Оценка противопаркинсонической активности.....	105
2.3.3. Определение содержания дофамина в стриатуме с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией.....	109
2.3.4. Определение нахождения исследуемых веществ в плазме крови и головном мозге животных.....	110
2.3.5. Оценка нейроресторационных свойств исследуемых веществ.....	110
2.3.6. Оценка влияния длительного введения исследуемого агента на жизненно важные органы и системы.....	111
2.3.7. Гистологическое исследование.....	112

2.3.8. Исследование показателей крови	113
2.3.9. Исследование анальгетической активности.....	113
2.3.10. Исследование противовоспалительной активности.....	115
2.3.11. Оценка раздражающего действия исследуемых веществ на слизистую оболочку желудка животных.....	116
2.4. Статистическая обработка.....	116
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И БСУЖДЕНИЕ.....	117
3.1. Результаты скринингового исследования новых соединений параментанового ряда.....	117
3.2. Исследование острой токсичности	121
3.3. Исследование влияния диола на двигательную-исследовательскую активность мышей на фоне введения L-ДОФА.....	122
3.4. Исследование противопаркинсонической активности диола на моделях паркинсонического синдрома, вызванного системным введением нейротоксина МФТП.....	125
3.5. Влияние абсолютной конфигурации на противопаркинсоническую активность диола.....	130
3.6. Изучение противопаркинсонической активности в стандартных тестах, рекомендованным руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств.....	139
3.7. Исследование противопаркинсонической активности при субхроническом введении нейротоксина МФТП.....	144
3.8. Исследование профилактического действия диола.....	145
3.9. Влияние диола на развитие индуцированного нейротоксином МФТП паркинсонического синдрома при длительном введении.....	148
3.10. Влияние диола на основные органы и системы животных при длительном введении.....	150
3.11. Анальгетическая активность диола.....	154

3.12. Влияние функциональных групп на проявление противопаркинсонической активности диолом.....	156
3.13. Исследование противопаркинсонической активности производных диола.....	159
3.14. Метаболиты диола (эпоксиды).....	165
3.15. Анальгетическая активность новых производных монотерпенового ряда.....	175
3.16. Изучение вовлечения различных нейромедиаторных систем центральной нервной системы в механизм анальгетического действия новых производных монотерпеноидов.....	202
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	212
ВЫВОДЫ.....	227
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	229
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	231

ВВЕДЕНИЕ.

Актуальность темы. Болезнь Паркинсона (БП) – хроническое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, поражающее 1% населения старше 60 лет (Deu A., De J.N., 2015), и признанная второй по значимости нейродегенеративным заболеванием после болезни Альцгеймера (Zhu Y. et al., 2020). На сегодняшний день насчитывается порядка 7-10 млн. людей, страдающих болезнью Паркинсона или паркинсоническим синдромом, и количество пациентов продолжает расти. Ожидается, что эта цифра к 2030 году увеличится вдвое из-за старения популяции.

Клиническая патология и диагностика БП обусловлены прогрессивной преждевременной смертью дофаминергических нейронов в черной субстанции головного мозга. Дефицит дофаминергических нейронов приводит к нарушению двигательных функций, проявляющихся ригидностью, тремором, брадикинезией и нестабильностью позы, а также к развитию немоторных симптомов, включая когнитивные нарушения, психиатрические симптомы, нарушение сна, боль, утомляемость и др. На сегодняшний день одобренные методы лечения БП ориентированы на компенсационные подходы, направленные на лечение клинических симптомов, но не оказывающие этиотропного действия, и не способствуют устранению патогенетической причины развития БП (Wang X. et al., 2008). На текущий момент болезнь Паркинсона является неизлечимой, а применяемая современная фармакотерапия позволяет лишь улучшить качество жизни и временно затормозить прогрессирование болезни. Болезнь Паркинсона, как и многие хронические заболевания, часто сопровождается хронической болью, от которой страдает около 10% взрослого населения. Эта проблема представляет собой наибольшее социо-экономическое бремя любого патологического состояния с расчетными ежегодными затратами на ее решение в сотни миллиардов долларов. Несмотря на свою

распространенность, современные методы лечения боли не обеспечивают адекватного снижения её продолжительности и/или степени ее облегчения.

Таким образом, поиск новых эффективных противопаркинсонических и анальгетических препаратов остается на сегодняшний день одной из важных задач фармакологии.

В данной работе использовали перспективный подход для получения новых лекарственных средств – разработку новых биологически активных соединений на основе природных монотерпеноидов. Опубликованные в литературе данные позволили выделить монотерпеноиды, химические структуры которых имеют высокий потенциал для дальнейшей разработки новых ЦНС-активных лекарственных средств. Для химической модификации выбрали экономически доступные монотерпеноиды: вербенол, изопулегол, миртеналь.

Степень разработанности

Монотерпеноиды широко распространены в природе, являясь основными компонентами эфирных масел растений. Многие нативные монотерпеноиды обладают широким спектром биологической активности и оказывают влияние одновременно на различные нейромедиаторные системы ЦНС. С одной стороны, это дает возможность для разработки лекарственных средств с мультитаргетным механизмом действия, а с другой, затрудняет достижение высокой селективности их действия, и может привести к развитию нежелательных побочных эффектов. Монотерпеновая функционализация (в частности, связанная с введением гетероатомов или получением гетероциклических монотерпеновых производных) может привести к значительному усилению биологической активности или повышению селективности их действия. Этот перспективный путь, вероятно, является самым коротким в разработке новых ЦНС-активных препаратов.

В литературе опубликовано множество результатов исследований относительно влияния монотерпеноидов на ЦНС. Хорошо изучена

противосудорожная активность многих монотерпеноидов: ментола (Zhang X.B. et al., 2008; Watt E.E. et al., 2008; Solomon V.R. et al., 2019), α -пинена (Felipe C.F.B. et al., 2019; Zamayad M. et al., 2019;), изопулегола (Silva M.I. et al., 2009; Manayi A. et al., 2016), тимола (Garcia D.A. et al., 2008; Manayi A. et al., 2016), карвона (Goncalves J.C. et al., 2010; Costa D.A. et al., 2012) и др. Для некоторых монотерпеноидов описана способность предотвращать повреждения нейронов в различных фармакологических моделях оценки воздействия на структуры ЦНС (Lin Z.Z. et al., 2008; Liu R. et al., 2011; Melo M.S. et al., 2011; Porres-Martinez M. et al., 2016; Mahmoodi M. et al., 2019; Wang, L. et al., 2019; Khoshnazar M. et al., 2020; Kong Y. et al., 2020).

В настоящее время уделяется большое внимание изучению противопаркинсонической активности продуктов природного происхождения: растительным экстрактам, эфирным маслам и их компонентам. Исследования показывают, что монотерпеноиды, содержащиеся в эфирных маслах, обладают противопаркинсоническим действием в различных моделях *in vivo* и *in vitro* (Dey A., De J.N., 2015; Rao S.V. et al., 2016; Siddique E.H. et al., 2016; Issa M.E. et al., 2020).

Наиболее изученными монотерпеноидами, в том числе и в отношении анальгетической активности, являются каннабиноиды. Фармакологическая активность и механизмы действия фитоканнабиноидов (большинство из которых относятся к монотерпенам, содержащим ароматический фрагмент) достаточно подробно описаны в литературе (Lotsch J. et al., 2018; Amin M. R., Ali D.W., 2019). Изучение биологической активности фитоканнабиноидов и разработка лекарственных средств на их основе вызывает в последние годы большой интерес с точки зрения разработки эффективного анальгетического средства.

Таким образом, разработка новых биологически активных соединений на основе природных монотерпеноидов является перспективным подходом для получения новых лекарственных средств. Имеющиеся опубликованные

данные позволяют выделить монотерпеноиды, химические структуры которых имеют потенциал для разработки новых ЦНС-активных лекарственных средств, в нашем случае противопаркинсонических и анальгетических.

Цель работы: изучение фармакологической активности производных монотерпеноидов для оценки перспективности их использования в качестве противопаркинсонических и анальгетических средств.

Задачи исследования

1. Провести фармакологические исследования новых кислородсодержащих производных *para*-ментанового ряда с использованием стандартных моделей с целью выявления перспективного агента, обладающего противопаркинсонической активностью. Установить зависимость противопаркинсонической активности от химической структуры.

2. Изучить влияние перспективного агента – диола на нейромедиаторные системы головного мозга для оценки предположительного механизма действия.

3. Исследовать противопаркинсоническую активность диола при различных схемах (однократное и длительное) и дозах введения. Изучить влияние диола на жизненно важные органы и системы животных при длительном введении.

4. Определить возможные метаболиты диола, выбрать наиболее активный, оценить влияние метаболитов на дофаминовые нейроны головного мозга животных.

5. Провести фармакологический скрининг анальгетической активности в ряду впервые синтезированных производных монотерпеноидов и выбрать наиболее перспективные агенты для проведения дальнейших фармакологических исследований.

6. Оценить влияние выбранных агентов на опиоидные структуры ЦНС и зависимость механизма действия от структуры соединения.

7. Оценить влияние перспективных агентов на нейромедиаторные системы ЦНС, в том числе каннабиноидную.

8. Изучить наличие у перспективных агентов возможных побочных эффектов, характерных для большинства анальгетических средств (влияние на двигательную активность и слизистую оболочку желудка животных).

Научная новизна

В настоящей работе впервые обнаружено кислородсодержащее производное ряда монотерпеноидов – диол, обладающее одномоментно выраженной противопаркинсонической, противосудорожной и анальгетической активностью. Противопаркинсонические свойства диола, вероятно, обусловлены его дофаминомиметическими и холинолитическими свойствами, которые способствуют восстановлению баланса нейромедиаторов в ЦНС. Впервые показали, что абсолютная конфигурация и наличие всех четырех (две гидроксильные и две двойные связи) функциональных групп имеет решающее значение в проявлении диолом противопаркинсонической активности. Впервые был обнаружен активный метаболит диола – моноэпоксид диола, проявляющий выраженную противопаркинсоническую активность и показана его способность проникать через гематоэнцефалический барьер. Было установлено, что моноэпоксид диола стимулирует рост дофаминовых нейронов мозга животных с индуцированным паркинсоническим синдромом, увеличивая количество дофаминовых синапсов в стриатуме.

Впервые в ряду соединений, сочетающих в своей химической структуре *пара*-ментановый и ароматический фрагменты, полученных путем взаимодействия (1*R*,2*R*,6*S*)-3-метил-6-(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-3-ен-1,2-диола и эпоксида вербенола с ароматическими альдегидами (группа 1), были

обнаружены два; в ряду аналогичных соединений, содержащих гетероароматические (фурановые и тиафеновые) заместители, синтезированные исходя из монотерпеноида изопулегола (группа 2), и в ряду соединений, сочетающих диазаадамантовый и монотерпеноидный фрагменты (группа 3), были обнаружены соединения, обладающие выраженной анальгетической активностью. Впервые было показано, что положение метоксигруппы в фенильном кольце изомеров выбранных соединений 1-й группы оказывает решающее влияние на механизм анальгетического действия, вовлекая в анальгетический ответ различные рецепторы: каннабиноидные и опиоидные для другого. Впервые при изучении предположительного механизма анальгетического действия выбранных соединений показано, что в анальгетический ответ данных агентов помимо каннабиноидной системы вовлечены и другие нейромедиаторные системы при участии 5-HT_3 -серотониновых, α_2 -адреналиновых и дофаминовых и мускариновых рецепторов ЦНС. Впервые показано, что перспективные соединения не вызывают побочных действий в виде угнетения двигательной активности и раздражающего действия на слизистую желудка.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработка безопасных и эффективных противопаркинсонических и анальгетических средств является важной задачей фармакологии, решение которой позволит значительно улучшить качество жизни пациентов, страдающих болезнью Паркинсона или паркинсоническим синдромом. Выявлены новые соединения, полученные на основе природных соединений, проявляющие выраженную противопаркинсоническую и анальгетическую активность.

Для соединения, обладающего противопаркинсонической активностью – диола, была доказана эффективность в качестве противопаркинсонического

агента при отсутствии серьезных побочных эффектов. В настоящее время диол проходит первый этап клинических испытаний в качестве противопаркинсонического агента.

Получены соединения, обладающие анальгетической активностью, можно рассматривать как перспективные для разработки нового класса высокоэффективных анальгетических средств, опосредующие механизмы действия через каннабиноидную систему и не оказывающих серьезных побочных эффектов, присущих используемым в терапевтической практике анальгетическим средствам.

Методология и методы исследования

Методология проведенных исследований основана с учетом рекомендаций "Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств", а также международных протоколов исследований. Все исследования *in vivo* были проведены на базе Лаборатории фармакологических исследований ФГБУН Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН.

Большинство исследований при изучении влияния новых производных монотерпеноидов на ЦНС было проведено на моделях *in vivo*, что позволяет оценить их способность одновременно воздействовать на несколько нейромедиаторных систем ЦНС. Кроме того, учитывалось, что кислородсодержащие производные монотерпенов, возникающие в результате метаболизма исследуемых веществ, также могут обладать значительной биологической активностью.

Исследования *in vivo* были выполнены на самцах мышей инбредной линии C57Bl/6, аутбредных (нелинейных) CD-1 обоих полов, белых крысах линии Вистар обоих полов.

Исследование включало в себя изучение *in vivo* фармакологической активности (противопаркинсонической, анальгетической активности,

влияния на нейромедиаторные системы ЦНС, определение средне летальной дозы и влияние на органы и системы животных) новых производных монотерпеноидов с помощью моделей и тестов, рекомендованных "Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств", а также международных протоколов исследований. а именно:

Положения, выносимые на защиту

1. Выявлено новое соединение – диол среди производных *para*-ментанового ряда, обладающее выраженной противопаркинсонической активностью в совокупности с противосудорожной и анальгетической.
2. Установлена связь противопаркинсонического действия диола с его химической структурой
3. Противопаркинсоническое действие диола обусловлено дофаминомиметическим и холинолитическим действием.
4. Диол может быть предложен в качестве основы для разработки перспективного противопаркинсонического низкотоксичного препарата.
5. Активный метаболит диола – моноэпоксид оказывает стимулирующее действие на рост дофаминергических нейронов головного мозга.
6. Механизм действия производных монотерпеноидов, обладающие выраженной анальгетической активностью, частично опосредован через каннабиноидную систему.
7. Новые производные монотерпеноидов с анальгетической активностью обладают низкой токсичностью и могут быть предложены для расширенных доклинических исследований в качестве анальгетических средств.
- 8.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов подтверждается проведением достаточного количества исследований, использованием современных

методов, которые соответствуют поставленным задачам проведенной работы. Сформулированные в диссертации научные положения и выводы основаны на полученных в ходе исследований данных, продемонстрированных в приведенных таблицах и рисунках. Статистический анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации.

Основные результаты работы были представлены на 6-ом Международном междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Украина, Крым, Судак, 2010г.), ежегодной конференции «Фундаментальные науки – медицине» (Новосибирск, Россия, 2010г.), международной научно-практической конференции «BIT's 8th Annual Congress of International Drug Discovery Science and Tehnology» (Пекин, Китай, 2010г.), международной научно-практической конференции «Current topics in orgsnic chemistry» (Новосибирск, Россия, 2011г.), научно-практической конференции «Инновации в современной фармакологии» (Казань, Россия, 2012г.), 9-ом Международном междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Украина, Крым, Судак, 2013г.).

Работа была поддержана грантами РФФИ: 12-03-31257 мол_а «Разработка методов селективной функционализации (1R,2R,6S)-3-метил-6-(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-3-ен-1,2-диола по метильным группам с целью изучения влияния заместителей на противопаркинсоническую активность», 12-04-31142 мол_а «Изучение фармакологической активности новых агентов монотерпенового ряда», 13-03-00206 А «Получение новых хиральных гетероциклических соединений на основе монотерпеноидов параментанового ряда. Фундаментальные закономерности и синтетический потенциал», 15-03-01092 А «Азаадамантаны на основе монотерпеноидов: синтез и биологические свойства», 19-03-00071 А «Рациональный дизайн новых производных монотерпеноидов, обладающих

противопаркинсонической активностью»; грантом ФЦП № 8726 «Поиск новых высокоэффективных анальгетических средств среди производных монотерпеноидов». Работа выполнена в рамках базовой программы V. 48 «Фундаментальные физико-химические исследования механизмов физиологических процессов и создание на их основе фармакологических веществ и лекарственных форм для лечения и профилактики социально значимых заболеваний» и программы СО РАН V.48.1.5. «Развитие современных подходов к фармакологическим исследованиям перспективных для медицины агентов, полученных на основе целенаправленного органического синтеза».

По теме диссертации получено 11 патентов РФ и один международный патент на изобретения, опубликовано 20 печатных работ, из них 19 полнотекстовых статей и одна обзорная в журналах, рекомендованных ВАК для опубликования основных результатов диссертаций.

Личное участие автора

Автор принимал личное участие в проведении научно-исследовательской работы на всех этапах – от планирования до обсуждения результатов и публикации результатов научного исследования.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, трех глав (обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения), заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 291 странице машинописного текста, иллюстрирована 60 таблицами и 29 рисунками. Библиографические ссылки включают 561 источник, из которых 505 – публикации зарубежных авторов.

Автор выражает личную признательность и благодарность своему научному консультанту д.б.н., проф. Т.Г. Толстиковой за ценные указания в

интерпретации полученных результатов и ценные советы при написании диссертационной работы. Автор благодарит сотрудников Лаборатории лесохимии и химии природных биологически активных соединений (зав.лаб. д.х.н. Н.Ф. Салахутдинову, д.х.н. К.П. Волчо) за предоставленные соединения для фармакологического исследования и помощь в анализе данных связи «структура-активность», сотрудников Лаборатории фармакологических исследований НИОХ СО РАН за помощь при выполнении экспериментальной части работы, коллектив лаборатории функциональной нейрогеномики Института цитологии и генетики под руководством проф. Г.Т. Шишкиной за помощь в выполнении исследований *in vitro* по изучению механизма действия диола, сотрудников Лаборатории молекулярной нейронауки Института биотехнологии города Хельсинки за сотрудничество в проведении экспериментов.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Болезнь Паркинсона и паркинсонический синдром

1.1.1. Механизмы развития болезни Паркинсона и паркинсонического синдрома

Болезнь Паркинсона (БП) или первичный, идиопатический паркинсонизм — это хроническое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, обусловленное преимущественным поражением дофаминергической системы головного мозга, проявляющееся сочетанием гипокинезии с мышечной ригидностью, дрожанием, постуральной неустойчивостью, нарушениями ходьбы и присоединением на поздних стадиях психических нарушений и прогрессирующей вегетативной недостаточности (Литвиненко И.В. и др., 2018). Первое детальное описание паркинсонического синдрома составлено английским врачом Джеймсом Паркинсоном в 1817 году, однако активное его изучение продолжается и в наши дни. Помимо идиопатической формы паркинсонизма выделяют также вторичный паркинсонизм, имеющий инфекционное, лекарственное, токсическое, сосудистое или травматическое происхождение, а также паркинсонический синдром, связанный с различными формами мультисистемной дегенерации, такими как болезнь Вильсона-Коновалова, хорея Хантингтона и другие. (Крыжановский, 2002; Литвиненко И.В. и др., 2018).

БП является самым распространенным нейродегенеративным синдромом после болезни Альцгеймера. Наиболее часто данное заболевание диагностируют у жителей европейских стран (66–1500 человек на 100000 населения), Северной (111–329 больных на 100000 населения) и Южной Америки (31–470 случаев на 100000 населения) (Kalia L.V., Lang A.E., 2015). По данным разных статистических исследований, общая распространенность паркинсонизма в разных регионах Российской Федерации составляет 32–210 больных на 100000 населения, из них до 93,2% случаев обусловлены БП

(Пугачева В.С. и др., 2016; Раздорская В.В. и др., 2016). Мужчины страдают в среднем в 1,5 раза чаще, чем женщины. Клинические признаки проявляются в среднем у 1% пациентов в возрасте 60 лет, у 3–10% – в 70–80 лет (Литвиненко И.В. и др., 2018). Однако, существует угрожающая тенденция к увеличению случаев возникновения патологии среди людей трудоспособного возраста. Так, в настоящее время каждый десятый пациент с диагностированной БП находится в возрастной группе от 40 до 50 лет, а у каждого двадцатого болезнь выявляют в возрасте до 40 лет (Раздорская В.В. и др., 2016). Отдельного рассмотрения заслуживают случаи ювенильного паркинсонизма среди молодых людей 20–30 лет.

Паркинсонический синдром сопровождается и немоторными проявлениями, а именно нарушениями цикла сна и бодрствования, стадии быстрого сна, депрессией, тревожными расстройствами, снижением обоняния, повышенной утомляемостью и вегетативными нарушениями. Дизавтономные проявления включают ортостатическую гипотензию, констипацию, нарушение мочеиспускания, себорею, слюнотечение, болевые синдромы (Крыжановский Г.Н. и др., 2002; Berg D. et al., 2015; Postuma R.B. et al., 2015; Федорова Н.В., 2016).

Выраженность немоторных симптомов нарастает по мере усугубления состояния больных, однако, манифестация многих из них, например, гипосмии, депрессии, запоров и нарушений фазы быстрого сна, наблюдается задолго до проявления двигательного расстройства (Chaudhuri K.R. et al., 2006). Первым симптомом продромальной фазы БП считают хроническую констипацию, которая, по данным статистических исследований, в 2–2,5 раза чаще наблюдается у индивидов, которым впоследствии диагностируют БП, причем в течение десяти- или даже двадцатилетнего периода (Adams-Carr K.L. et al., 2016). Возникновение нарушений фазы сна с быстрым движением глаз позволяет с 80%-ной вероятностью прогнозировать развитие БП, а также некоторых других нейродегенеративных заболеваний в некоторых случаях за

10 лет до проявления клинической картины (Postuma R.B. et al., 2015). Нарушение ольфакторного восприятия предвещает развитие БП в течение пяти лет с вероятностью 12,5% (Ponsen M.M. et al., 2017). В свою очередь, видимые моторные проявления возникают лишь в результате потери более 50% дофаминергических нейронов (Rodríguez-Violante M. et al., 2017).

Ключевой патоморфологической чертой БП является дегенерация и гибель дофаминергических нейронов компактной зоны черной субстанции среднего мозга (Bartels A.L., Leenders K.L., 2009). Наиболее выраженные патологические изменения черного вещества обычно наблюдаются в вентролатеральном слое, который содержит нейроны, посылающие свои проекции в скорлупу и полосатое тело, базальные ганглии, ответственные, в первую очередь, за контроль движений и мышечного тонуса. На макроскопическом уровне отмечается бледная окраска *substantia nigra*, вызванная уменьшением числа содержащих нейромеланин дофаминергических нейронов (Gibb W.R. et al., 1991; Fabbri M. et al., 2017). Так как дофамин является первичным нейротрансмиттером стриатума, снижение его концентрации в компактной зоне черного вещества среднего мозга и повреждение проекций нейронов (нигростриарный дофаминергический путь) приводит к нарушению функционирования всего стриарного комплекса (Goole J., Amighi K., 2009). Снижение уровня дофамина в скорлупе и хвостатом ядре приводит к их растормаживанию. Таким образом, нарушается контроль хвостатого ядра над ретикулоспинальными связями, что сопровождается удлинением времени тонической задержки мышц (Литвиненко И.В. и др., 2018). Снижение концентрации дофамина приводит к дисбалансу других нейромедиаторных систем мозга. Показано, что при БП отмечается не только потеря нигральных нейронов, но и гибель нервных клеток голубого пятна (ядра норадренергической системы), холинергического базального ядра Мейнерта, серотонинергического ядер шва, педункулопонтинного тегментального ядра,

миндалины и гипоталамуса (Dickson D.W., 2018). На фоне дефицита дофамина увеличивается влияние на холинергические нейроны возбуждающего медиатора глутамата через рецепторы NMDA (Sanjari Moghaddam H. et al., 2017). Ацетилхолин, образующийся во вставочных нейронах *nucleus caudatus*, является «облегчающим» медиатором, способствующим возбуждению каудальных нейронов. В результате картина заболевания определяется балансом между дофаминергической и холинергической системами, смещенным в сторону последней (Литвиненко И.В. и др., 2018).

Золотым стандартом в диагностике болезни Паркинсона считают наличие в компактной зоне черной субстанции телец Леви, определяемых посмертно при патологоанатомической экспертизе. Эти образования представляют собой скопления патологически измененного α -синуклеина, белка, который в нормальном состоянии широко распространен в пресинаптических окончаниях и, вероятно, принимает участие в везикулярном транспорте. α -Синуклеин вследствие невыясненных причин может приобретать аномальную конформацию, что приводит к накоплению внутри нервных клеток токсичных олигомеров в виде телец Леви. Недавние исследования указывают на прионоподобное поведение данного белка как способ его распространения в нервной системе, причем потенциальными отправными точками могут являться энтерическая нервная система или обонятельные луковицы (Braak H. et al., 2003; Hayes M.W. et al., 2019). Прионная природа заболевания подтверждается исследованиями аутопсийного материала пациентов с болезнью Паркинсона, которым предварительно трансплантировали зародышевую ткань среднего мозга (Olanow C.W., Brundin P., 2013), а также экспериментами по введению в стриатум здоровых животных синтетического α -синуклеина (Luk K.C. et al., 2012).

На настоящий момент причина идиопатического паркинсонизма не установлена, однако эксперты сходятся во мнении, что БП представляет собой мультифакториальное заболевание, которое является результатом взаимодействия генетических и средовых факторов. Удельный вес генетических факторов преобладает в случае семейной аутосомно-доминантной и ювенильной форм паркинсонизма (Иванова-Смоленская И.А., 2005; Шнайдер Н.А., Сапронова М.Р., 2012). Однако статистические исследования показывают, что БП в основном возникает спорадически, а семейный паркинсонизм, обусловленный мутантными вариантами определенных генов, составляет лишь около 10% всех случаев болезни (Tysnes O.B., Storstein A., 2017). Для наследственной и спорадической формы заболевания характерны общие ключевые события патогенеза. Поскольку наиболее существенным фактором риска является пожилой возраст, множество современных исследований направлено на изучение возрастных изменений в функционировании дофаминергической системы и нейродегенеративных процессов, ассоциированных с физиологическим старением (Golbe L.I., 1990). Важную роль в развитии БП, по всей видимости, играют нарушения протеостаза, включающие аномальную агрегацию белков, нарушение внутриклеточного и мембранного транспорта, а также разрушения белковых молекул убиквитин-протеасомальной и аутофаголизосомальной системой (Kalia L.V., Lang A.E., 2015).

Среди факторов окружающей среды, способствующих развитию БП выделяют, прежде всего, подверженность воздействию пестицидов, жизнь в сельской местности и занятость в сельском хозяйстве, травмы головы, применение β -адреноблокаторов и употребление некипяченой воды, а также, возможно, применение антипсихотических препаратов и контакт с органическими растворителями, в частности, с трихлорэтиленом (Noyse A.J. et al., 2012). Хорошо известны нейротоксическое вещество 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП), являющееся промежуточным продуктом

синтеза меперидина, и 6-гидроксидофамин (6-OHDA), оба вызывающие симптомы паркинсонизма в здоровом организме и используемые для моделирования экспериментальной патологии у животных (Schober A., 2004). Фермент МАО-В трансформирует МФТП в биоактивное соединение МФП+, которое транспортируется переносчиком дофамина, накапливается в митохондриях, вызывая разобщение дыхательной цепи, что в конечном итоге приводит к гибели нейронов в черной субстанции, стриатуме и голубом пятне (Burns R.S. et al., 1985; Langston J.W. et al., 1999; Langston J.W., 2017). Показано, что 6-гидроксидофамин также оказывает повреждающее воздействие на митохондрии, вызывает окислительный стресс, воспалительную реакцию, а впоследствии – апоптоз или некроз нигральных нервных клеток (Hernandez-Baltazar D. et al., 2017). Также стимулируют развитие паркинсонизма многие металлы, такие как алюминий, кадмий, кобальт, медь, железо и марганец, которые способствуют образованию нерастворимых фибрилл α -синуклеина (Uversky V.N. et al., 2001; Bjørklund G. et al., 2018; Mezzaroba L., 2019).

В качестве одной из наиболее вероятных причин развития БП называют подверженность нейронов оксидативному и нитрозативному стрессу, способствующему образованию патологических аддуктов и аномальному фолдингу белка. Ткань мозга особенно подвержена окислительным повреждениям, что обусловлено высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот, активным потреблением клетками кислорода и относительно низкими концентрациями антиоксидантных ферментов по сравнению с другими тканями (Petrozzi L. et al., 2007). Митохондриальная ДНК проявляет большую чувствительность по отношению к этим повреждающим факторам по сравнению с ядерной ДНК из-за близости дыхательной цепи как источника активных форм кислорода, отсутствия гистонов и недостаточной активности системы репарации. Согласно современным представлениям, мутации митохондриальной ДНК вносят

основной вклад в патофизиологическую и связанную с возрастом нейродегенерацию (Beal M.F., 2005; Bose A., Beal M.F., 2016). В нейронах черной субстанции, а также в периферических тканях пациентов с БП отмечается уменьшение активности НАДН-убихинон-оксидоредуктазы, или комплекса I дыхательной цепи, α -кетоглутаратдегидрогеназы, липоамиддегидрогеназы и дегидрогеназы разветвленных α -кетокислот, которое может быть вызвано токсическими воздействиями или же полиморфизмами митохондриальных генов. Результатом недостаточной функции ферментов энергетического обмена является уменьшение содержания АТФ в клетках, накопление свободных радикалов и гибель клеток (Buneeva O.A., Medvedev A.E., 2011).

Истощение энергетических ресурсов дофаминергических нейронов, приводит к нарушению упаковки дофамина в секреторные гранулы, где нейромедиатор находится в стабилизированном состоянии. Попадая в цитоплазму клетки, дофамин подвергается быстрой ферментативной деградации MAO-B, альдегиддегидрогеназой и КОМТ или спонтанному окислению в присутствии активных форм кислорода (Eisenhofer G. Et al., 2004). Окисление дофамина катализируют ионы металлов, такие как Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} (Bjørklund G. et al., 2019), а также ферменты ксантиноксидаза, цитохром P450, простагландин-H-синтаза и лактопероксидаза (Eisenhofer G. et al., 2004).

Продуктом первой стадии окислительного пути дофамина является соединение 3,4-дофамин-О-хинон, которое подвергается межмолекулярной циклизации с образованием аминохрома, который может быть в дальнейшем окислен до 5,6-индолхинона. В физиологических условиях эти метаболиты принимают участие в синтезе нейромеланина, который является финальным продуктом окислительного пути деградации дофамина (Sulzer D., Zecca L., 2000). В избыточных концентрациях аминохром и 5,6-индолхинон демонстрируют выраженную токсичность по отношению к

дофаминергическим нейронам (Asanuma M. et al., 2004; Burbulla L.F. et al., 2017; Monzani E. et al., 2019). Кроме того, 3,4-дофамин-О-хинон легко вступает в реакцию с серосодержащими молекулами, такими как L-цистеин и глутатион, с образованием тиокатехоламинов, что на фоне существующего окислительного стресса дополнительно уменьшает эффективность антиоксидантных систем (Jameson G.N. et al., 2004; Bisaglia M. et al., 2010). Исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что 5-S-цистеинилдофамин и его окисленные бензотиазины вызывают значительные повреждения нервных клеток, сравнимые с вызываемыми МФТП и 6-гидроксидофамином. Эти повреждения характеризуются увеличением продукции активных форм кислорода, последующим перекисным окислением липидов, карбонилированием белков и повреждением ДНК, нарушением кальциевого гомеостаза, приводящим к уменьшению мембранного потенциала митохондрий и разобщению дыхательной цепи, а также активации апоптотических сигналов (Vauzour D. et al., 2017; Badillo-Ramírez I. et al., 2019). Интересно, что на фоне оксидативного стресса возрастает защитная роль такого эндогенного антиоксиданта как мочевая кислота, в связи с чем повышенный уровень уратов в крови относят к факторам, уменьшающим риск развития БП (Paganoni S., Schwarzschild M.A., 2017). Нарушение кальциевого гомеостаза клеток, в свою очередь, можно скомпенсировать применением блокаторов кальциевых каналов, которое также является фактором, предупреждающим возникновение паркинсонического синдрома (Surmeier D.J. et al., 2017).

Одним из основных источников генерации свободных радикалов являются воспалительные реакции, вызываемые, в частности, инфекционными агентами. Возможность инфекционной этиологии заболевания подтверждается, в частности, примером резкого увеличения манифестации БП среди населения Европы и США после десятилетней эпидемии летаргического энцефалита 1915–1925 гг. (не считая случаи

постэнцефалитического паркинсонизма). Впоследствии было показано, что дофаминергические нейроны проявляют уязвимость по отношению к другим возбудителям: вирусам гриппа H5N1, Коксаки, японского энцефалита, энцефалита Сент-Луиса, лихорадки западного Нила (Jang H. et al., 2009). Согласно патогенетической модели, предложенной Braak H. и коллегами (2003), распространение патологического процесса в нервной системе при БП начинается с подслизистого нервного сплетения кишечника или нервных окончаний в слизистой оболочке носа и потенцируется глиальными клетками, продуцирующими провоспалительные цитокины и инициирующими окислительный стресс (Braak H. et al., 2003). Развивающаяся в ЦНС воспалительная реакция вовлекает астроциты и микроглию головного мозга, что постепенно приводит к поражению всех его отделов. Цитокины, выделяемые глиальными клетками в мозге, участвуют в модуляции высвобождения нейромедиаторов, долговременной потенциации, что проявляется на уровне поведенческих реакций. В норме глия выполняет гомеостатическую функцию, но хроническая ее активация, спровоцированная нейротоксическими веществами, аномальным α -синуклеином и гибелью нейронов, способствует поддержанию и распространению патологического процесса даже при условии элиминации его причины. Такой самовоспроизводящийся цикл нейротоксической активации микроглии в ответ на повреждение нервных клеток называют реактивным глиозом (Block M.L. et al., 2007; Слободин Т.Н. 2018; Rizor A. et al., 2019). Показано, что активированная микроглия способствует повышению проницаемости ГЭБ и сенситизирует нервную ткань к последующим повреждениям, что, по-видимому, также является частью патогенеза БП (Chung Y.C. et al., 2010). В пользу гипотезы о воспалительном генезе заболевания говорит и тот факт, что риск развития БП уменьшается при применении противовоспалительных препаратов (Rees K. et al., 2011). Кроме того, доказательством данной гипотезы служит связь вероятности

возникновения БП с полиморфизмами генов, отвечающих за выработку человеческих лейкоцитарных антигенов (Nalls M.A. et al., 2014).

Нейродегенерации в компактной зоне черной субстанции способствует также избыточная стимуляция со стороны глутаматергических нейронов мезостриатума (Миронова Ю.С. и др., 2018). Эксайтотоксичность, сопровождающаяся активацией ионотропных NMDA-рецепторов, предполагает значительное повышение концентрации ионов Ca^{2+} в постсинаптических нейронах, вследствие чего происходит изменение мембранного потенциала, наблюдается дисфункция митохондрий, нарушение энергетического баланса и, в конечном итоге, гибель клетки. Этот процесс взаимосвязан с патологической активацией глиальных клеток и их неспособностью контролировать весь объем высвобождаемого глутамата, а также нейтрализовать образующиеся активные формы кислорода и NO (Ambrosi G. et al., 2014).

Исходя из всего вышесказанного, можно заключить, что, несмотря на ограниченное количество и неявность наблюдаемых симптомов в начальном периоде заболевания, БП представляет собой тяжелое прогрессирующее заболевание всего мозга. На основании имеющихся данных о патогенезе можно выделить множество потенциальных точек воздействия, что обеспечивает возможность разработки фармакотерапии, позволяющей эффективно купировать моторные и немоторные симптомы болезни, поддерживать способность пациентов к самостоятельной деятельности и продлить срок их жизни.

1.1.2. Лечение болезни Паркинсона и паркинсонического синдрома

После публикации «Эссе о дрожательном параличе» Джеймса Паркинсона в 1817 году, где он впервые описал характерные симптомы и провел тщательный анализ наблюдаемых случаев и выявил общие закономерности, играющие ключевую роль в диагностике болезни

Паркинсона, многие врачи предпринимали попытки разработать медикаментозную терапию заболевания для своих пациентов. Для лечения БП они предлагали препараты ртути, мышьяка, брома, железа, спорыньи, а также стрихнин и хлороформ. Особое место в терапии занимали антиму斯卡риновые алкалоиды белладонны и других растений семейства пасленовых, такие как гиосциамин и атропин, скополамин, дюбуазин, а позже и их синтетические производные. К концу 1960-х гг., когда была выяснена роль дефицита дофамина в развитии синдрома, ключевым направлением в стратегии лечения стала прямая и опосредованная дофаминергическая стимуляция (Fahn S., 2015). В настоящее время основные методы симптоматической терапии при БП направлены на повышение синтеза дофамина, прямая стимуляция D1- и D2-дофаминовых рецепторов постсинаптических нейронов и стимуляция высвобождения дофамина из пресинаптических окончаний, торможение обратного захвата дофамина и его катаболизма (Федорова Н.В., 2016).

Золотым стандартом по сей день являются препараты леводопы – биологического предшественника дофамина, которые рано или поздно приходится назначать каждому пациенту. Леводопа остается наиболее эффективным лекарственным средством, восполняющим нехватку дофамина в ЦНС и купирующим большинство симптомов БП, что позволяет существенно продлить жизнь пациентов и поддерживать ее качество (Левин О.С., 2013). В отличие от дофамина, вещество легко проникает через гематоэнцефалический барьер путем переноса системой транспорта больших нейтральных аминокислот и в процессе декарбоксилирования в головном мозге преобразуется в активный дофамин (Juncos, 1992; Khor S.P., Hsu A., 2007). Преимуществами леводопы являются быстрота и «наглядность» действия, а также связанная с этим возможность удобного титрования разовой и суточной дозы (Иллариошкин С.Н., Федорова Н.В., 2008). Следует отметить, что сам факт эффективности леводопы является одним из главных

критериев, дифференцирующих БП от других форм паркинсонизма (Литвиненко И.В. и др., 2018). Максимальный симптоматический эффект леводопы наблюдается до проявления у больных постуральной неустойчивости, после чего возникают резистентные к действию препарата симптомы (Левин О.С., 2013). Однако препятствием к раннему назначению леводопы является развитие в течение нескольких лет моторных флуктуаций, выражающихся в виде колебания эффекта терапии в течение дня, а также различных форм дискинезий (Федорова Н.В., 2016). Показано, что применение леводопы не препятствует прогрессирующей дегенерации нигральных нейронов и, напротив, может способствовать развитию патологического процесса за счет образования окисленных хиноновых производных и активных форм кислорода (Melamed E. et al., 1998). Таким образом, в настоящее время препараты леводопы, как правило, назначают лишь при значительно выраженной двигательной симптоматике, либо в качестве средства первоначальной терапии у больных пожилого возраста, особенно при сопутствующих психических и соматических расстройствах, в связи с меньшей вероятностью развития у них побочных эффектов, вызванных влиянием препаратов других групп на ЦНС (Hauser et al., 2006).

Особенности фармакокинетики чистой леводопы таковы, что она широко распределяется по тканям организма и более чем на 95% подвергается преобразованию периферической ДОФА-декарбоксилазой желудочно-кишечного тракта, мышц и эндотелия сосудов (Bianchine J.R. et al., 1972). Показано, что при внутривенном введении крысам препарата в дозе 20 мг/кг лишь 0,1% вещества определяется в ЦНС через час (Geu K.F., Pletscher A., 1964). Образующийся периферический дофамин вызывает такие побочные эффекты, как тошнота, рвота, ортостатическая гипотензия. Вторым по значимости путем превращения является 3-О-метилирование леводопы ферментом КОМТ с образованием терапевтически неактивного продукта (Dingemanse J., 2000). Проблема периферического метаболизма препарата

решается за счет комбинирования леводопы с ингибитором периферических ферментов ДОФА-декарбоксилазы (карбидопа или бенсеразид) и КОМТ (энтакапон). Комбинированные средства на практике почти полностью заменили чистую леводопу, поскольку позволяют существенно увеличить эффективность лечения и снизить терапевтическую дозу леводопы и, тем самым, отсрочить наступление центральных побочных эффектов.

Возникновение моторных флуктуаций (феномен «изнашивания» дозы, феномен «включения-выключения», застывания) и дискинезий, таких как хореоформные дискинезии пика дозы, дистония конца дозы, двухфазная дискинезия и другие, может быть обусловлено как прогрессированием патологического процесса, так и действием леводопы (Левин О.С., 2005). Вероятность их появления возрастает в среднем на 10% ежегодно, коррелируя с длительностью применения препарата и продолжительностью самого заболевания (Hauser R.A. et al., 2006). Предложенный механизм развития этих осложнений предполагает утрату естественных «буферных» свойств гибнущих дофаминергических нейронов, т.е. их способности накапливать и стабильно высвобождать дофамин в синаптическое пространство. Следовательно, концентрация дофамина начинает зависеть от колебания концентраций лекарственного вещества в крови, что приводит к нарушению необходимой тонической стимуляции дофаминовых рецепторов (Olanow C.W. et al., 2006; Hauser R.A., 2009; Обухова А.В., 2014).

Для коррекции моторных флуктуаций используют лекарственные формы леводопы с замедленным высвобождением. Недостаток этих препаратов заключается в медленном нарастании концентрации леводопы в крови (T_{\max} 1,5–3 часа) и, следовательно, медленном наступлении эффекта, а также в достижении более низкой пиковой концентрации вещества. Кроме того, в связи со снижением биодоступности приходится увеличивать дозу леводопы на 20–30%, причем эффект препарата остается не вполне предсказуемым. При эффекте «пропуска дозы», внезапных «выключениях»,

акинезиях применяют также быстрорастворимую диспергируемую форму комбинации леводопа+бенсеразид, которая позволяет быстро скомпенсировать дефицит дофаминергической стимуляции (Левин О.С., 2013).

Как было отмечено ранее, в связи с развивающимися побочными эффектами леводопу не назначают в качестве первоначального средства лечения БП в отсутствие выраженных двигательных и когнитивных расстройств. Разработка альтернативного, более безопасного подхода, ориентированного на многолетнее применение противопаркинсонических препаратов, особенно актуальна для пациентов молодого возраста. На ранних стадиях болезни недостаток дофаминергической передачи можно эффективно скомпенсировать с помощью агонистов дофаминовых рецепторов (АДР), воздействующих непосредственно на постсинаптические рецепторы дофамина. Используемые препараты взаимодействуют с разными типами дофаминовых рецепторов. Всего их выделяют пять типов: рецепторы D1 и D5, относящиеся к семейству D1 и D2-подобные рецепторы D2, D3 D4 (Hisahara S., Shimohama S., 2011). Неоспоримыми преимуществами АДР являются отсутствие у них токсического метаболического эффекта, присущего ДОФА, потенцирующего развитие моторных флуктуаций и дискинезий, и независимостью терапевтического действия от степени дегенерации черной субстанции, поскольку оно осуществляется в обход нигростриарных нейронов (Nutt J.G. et al., 2000). По сравнению с леводопой АДР обладают также ценными фармакокинетическими свойствами. Их всасывание в кишечнике происходит в отсутствие конкуренции с пищевыми аминокислотами, вследствие чего применение этих препаратов не зависит от приемов пищи. К тому же, для этих средств, как правило, характерен продолжительный период полувыведения, обеспечивающий необходимую тоническую стимуляцию дофаминовых рецепторов. Некоторые АДР

дополнительно обладают антидепрессантным эффектом (Федорова Н.В., Кулуа Т.К., 2007).

Таким образом, в настоящее время АДР являются препаратами выбора для стартовой терапии БП, а впоследствии по мере усугубления симптомов заболевания схема лечения может быть дополнена ингибиторами МАО-В, амантадинами, холинолитиками (Обухова А.В., 2014). На ранних стадиях заболевания эффективность АДР приближается к эффективности леводопы. Особенно отмечают способность этих препаратов купировать тремор, который плохо поддается коррекции с помощью леводопы (Pogarell O. et al., 2002). При применении в комбинации с леводопой препараты способствуют улучшению тестовых показателей двигательной активности больных (Woitalla D. et al., 2018), а также стимулируют высвобождение дофамина в синапсах, что позволяет уменьшить дозу леводопы (Olanow C.W. et al., 1994). Вместе с тем, стоит отметить, что если доза леводопы не будет уменьшена, то АДР могут дополнительно спровоцировать развитие дискинезий (Brodsky M.A. et al., 2010).

Существующие АДР подразделяют на эрголиновые (бромокриптин, перголид, каберголин, лизурид, α -дигидроэргокриптин) и неэрголиновые (апоморфин, пирибедил, ропинирол, прамипексол и ротиготин) (Torti M. et al., 2019). В настоящее время эрголиновые АДР редко используют в связи с такими побочными эффектами как фиброз сердечных клапанов, спазмы сосудов, эритромелалгия, плевропульмональный и ретроперитонеальный фиброз (Antonini A., Poewe W., 2007). В nigrostriарном тракте, отвечающем за локомоторную активность, в высоких концентрациях представлены рецепторы D1, D2 и D3, при этом рецепторы D1 преобладают в медиальном бледном шаре и ретикулярной части черной субстанции, а рецепторы D2, главным образом, в латеральном бледном шаре. Рецепторы D2 считают в наибольшей мере ответственными за контроль моторных функций (Kvernmo T. et al., 2006). Рецепторы D3 широко распространены в структурах,

входящих в мезолимбический путь и, следовательно, вовлечены во многие аспекты регуляции поведения и настроения, в частности, в механизмы обучения и памяти, связанные с подкреплением и вознаграждением, а также с формированием аддиктивного поведения. В то же время, как полагают, стимуляция рецепторов D3 в целом отвечает за восприимчивость к терапии АДР (Joyce J.N. et al., 2002). Рецепторы D4 в наибольшем количестве определяются на мембранах нейронов мезокортикального пути, также отвечающего за многие когнитивные и поведенческие функции (Pignatelli M., Bonci A., 2015).

Преимущественным агонистом дофаминовых D1-рецепторов неэрголинового ряда является апоморфин. Апоморфин способен взаимодействовать с рецепторами D2, а также является антагонистом 5-HT₂-серотониновых и α -адренорецепторов. Показано, что по своей эффективности апоморфин соответствует леводопе, но его главным недостатком является короткий период полувыведения, в связи с чем этот препарат обычно применяют в виде продолжительных инфузий для купирования леводопа-резистентных дискинезий (Boyle A., Ondo W., 2015). Апоморфин является эффективным средством против немоторных симптомов, включая психические и когнитивные нарушения, висцеральные боли в период «выключения» при терапии леводопой, нарушения со стороны пищеварительной и выделительной системы (Martinez-Martin P. et al., 2011). Ротиготин – это единственный представитель АДР, применяющийся в виде трансдермального пластыря. Несмотря на выраженное терапевтическое действие агонистов D1-рецепторов, назначение их ограничено в связи с тем, что именно стимуляция D1-рецепторов, как было показано, способствует развитию у пациентов моторных флуктуаций (Neumann R. et al., 2014).

Благодаря большей безопасности, возможности орального применения, и длительному периоду полувыведения наиболее широко используются агонисты дофаминовых рецепторов семейства D2: прамипексол, ропинирол,

пирибедил. Для прамипексола и ропинирола характерна наиболее высокая аффинность к рецепторам D3, в значительно меньшей степени они взаимодействуют с D2 и D4 и практически не связываются с D1. Оба препарата, применяющиеся в формах с быстрым и замедленным высвобождением, способствуют существенному улучшению двигательной активности пациентов как на ранних стадиях БП, так и на поздних. В комбинации с леводопой они откладывают начало развития моторных флуктуаций, уменьшают тяжесть и длительность дискинезий (Шавловская О.А., 2014; Stocchi F. et al., 2008; Antonini A. et al., 2010). Для лекарственной формы прамипексола с быстрым высвобождением выявлено выраженное антидепрессивное действие (Barone P. et al., 2010). Пирибедил, представляющий собой частичный агонист рецепторов D2 и D3, также обладает некоторой аффинностью к 5-HT₂-серотониновым рецепторам, обладает α_2 A- и α_2 C-адреноблокирующими свойствами. Это средство обладает доказанной антипаркинсонической активностью в отсутствие моторных флуктуаций, особенно отмечают его способность противодействовать таким симптомам как апатия и дневная сонливость (Perez-Lloret S., Rascol O., 2016). Ротиготин обладает наибольшей аффинностью к D3-дофаминовым рецепторам (превышающее средство к D2 и D1 подтипам в 20 и 100 раз соответственно). Как показали исследования, это средство облегчает течение моторных флуктуаций, улучшает сон и оказывает благоприятный эффект на моторику желудочно-кишечного тракта и глотательную дисфункцию (Ghys L. et al., 2011; Giladi N. et al., 2014; Hirano M. et al., 2015).

В целом группа АДР отличается хорошей переносимостью, однако обладает рядом нежелательных эффектов. В основном побочное действие данных препаратов обусловлено их периферическим действием на рецепторы дофамина в почках, кровеносных сосудах, постганглионарных симпатических нервах и в симпатических ганглиях. Стимуляция этих

рецепторов вызывает вазодилатацию, брадикардию и уменьшение сократимости миокарда, увеличивает диурез и натрийурез, что, в конечном итоге, приводит к развитию гипотензии и вариабельности сердечного ритма. В число распространенных побочных эффектов входят тошнота, рвота, запоры, отеки, головокружение, сонливость и приступы засыпания, а также спутанность и галлюцинации, наблюдающиеся в основном у пациентов старше 70 лет (Torti M. et al., 2019). Кроме того, вносить коррективы в терапевтическую схему приходится из-за развития у больных потери контроля над побуждениями, включающих патологическое пристрастие к азартным играм, шопингу, гиперсексуальность и другие отклонения (Weintraub D. et al., 2010). Прекращение приема АДР, в свою очередь, приводит к развитию синдрома отмены, выражающегося в панических атаках, депрессии, ажитации, утомляемости, возникновении болевых ощущений, профузного потоотделения, тяги к употреблению лекарства (Yu X.X., Fernandez H.H., 2017).

Широко используемыми лекарственными средствами, дополняющим терапию леводопой и АДР, являются аминадамантаны, в частности, амантадин (1-аминоадамантан). Противопаркинсоническое действие амантадина, назначенного в качестве противовирусного препарата для профилактики гриппа, впервые было выявлено случайно в 1968 году (Schwab R.S. et al., 1969; Hubsher G. et al., 2012). Амантадин представляет собой, прежде всего, низкоаффинный неконкурентный антагонист NMDA-рецепторов глутамата, что, вероятно, обеспечивает его нейропротекторное действие, выражающееся в подавлении эксайтотоксичности и торможении нейродегенерации (Danysz W. et al., 1997). Данные о воздействии этого препарата на дофаминергическую систему противоречивы. Ряд авторов сообщает о способности амантадина подавлять обратный захват дофамина из синаптической щели (Heimans R.L. et al., 1972), другие же исследователи отрицают наличие у вещества прямого дофаминергического действия (Brown

F., Redfern P.H., 1976; Jackisch R. et al., 1992). Как бы то ни было, на практике амантадин проявляет умеренную терапевтическую активность в отношении брадикинезии и мышечной ригидности, мало воздействуя на тремор, и позволяет снизить дозу леводопы (Юров И.В., 2012). Особенно отмечают его антидискинетическое действие, длящееся до восьми месяцев (Thomas A. et al., 2004; Sawada H. et al., 2010; Müller T. et al., 2019), а также ухудшение течения дискинезий при отмене препарата (Wolf E. et al., 2010). Мягкая антихолинергическая активность амантадина также является уместной в ходе лечения БП, однако она обуславливает такие центральные побочные эффекты как спутанность сознания, беспокойство, галлюцинации и сухость во рту, которые ограничивают назначение средства. Среди прочих нежелательных эффектов применения – отеки в области лодыжек и ретикулярная асфиксия (Müller T. et al., 2019).

Антихолинергические средства стали одними из основных препаратов, применяющихся для лечения БП (Fahn S., 2015). Несомненно, ацетилхолин вовлечен в моторную координацию и регуляцию когнитивных функций (Perez-Lloret S. et al., 2016). В составе антипаркинсонической терапии применяют такие блокаторы мускариновых рецепторов как бензтропин, бипериден, дифенгидрамин, этопропазин, орфенадрин, проциклидин и тригексифенидил (Brocks D.R., 1999). Холинолитики блокируют избыточную холинергическую стимуляцию нейронов базальных ганглиев и, таким образом, способствуют восстановлению баланса ацетилхолина и дофамина в мозге. В клинике это действие выражается, главным образом, в уменьшении тремора и в меньшей степени – ригидности (Крыжановский Г.Н. и др., 2002). Однако эффективность данных средств не очень высока по сравнению с антипаркинсоническими препаратами других групп. Наиболее целесообразно их назначение при выраженном треморе покоя и болезненных дистониях, не поддающихся коррекции другими средствами (Левин О.С., 2013). Вместе с тем, холиноблокаторы имеют многочисленные побочные эффекты:

нарушение аккомодации, мидриаз, сухость во рту, запоры, задержка мочеиспускания, галлюцинации, нарушение когнитивных функций. В связи с тем, что польза от антихолинергических средств мало сопоставима с возможными рисками, в настоящее время врачам рекомендуют воздерживаться от включения этих препаратов в терапевтические схемы (DeGermay S. et al., 2016). Кроме того, при БП наблюдается и недостаток холинергической нейротрансмиссии в головном мозге, вследствие чего развивается деменция. В случае легкого и умеренного нарушения когнитивных функций при БП, а также при болезни Альцгеймера коррекцию осуществляют с помощью ингибиторов ацетилхолинэстеразы головного мозга донепезила, галантамина и ривастигмина (Perez-Lloret S. et al., 2016).

Особенное место в антипаркинсонической терапии занимают блокаторы МАО-В. Фермент МАО-В представляет собой изоформу моноаминооксидазы, преобладающую в головном мозге человека и обеспечивающую метаболизм дофамина до 3,4-дигидроксифенилуксусной и гомованилиновой кислоты с образованием перекиси водорода (Saura Marti J. et al., 1990). Следовательно, в условиях митохондриальной дисфункции данный фермент не только служит для разложения дофамина, но и вносит вклад в окислительный стресс в нейронах. При этом отмечено возрастание активности МАО-В с возрастом и, в частности, при БП (Hauser D.N., Hastings T.G., 2013). Таким образом, ингибиторы МАО-В позволяют пролонгировать действие дофамина в синаптической щели, а также оказывают нейропротекторный эффект. В клинической практике используют три селективных ингибитора МАО-В: селегилин, разагилин и сафинамид (Dezsi L., Vecsei L., 2017). Селегилин и разагилин являются необратимыми ингибиторами фермента. Биодоступность этих препаратов невысока, они подвергаются интенсивной переработке в печени и характеризуются коротким периодом полувыведения, однако их эффект достаточно длителен благодаря долгому периоду восстановления ингибированной МАО-В

(Mahmood I., 1997; Chen J.J. et al., 2007). Терапевтическое действие селегилина оценивают как умеренное, но, тем не менее, препарат вызывает достоверное улучшение состояния больных, позволяет отсрочить начало применения леводопы в среднем на девять месяцев, а также снизить дозу леводопы в комбинации с ней (Parkinson Study Group, 1993; Shoulson I. et al., 2002). Кроме того, селегилин обладает антиоксидантным и антиапоптотическим действием и стимулирует продукцию нейротрофических факторов (Naoi M., Maruyama W., 2009). Отмечено, что данное средство не замедляет и даже несколько предрасполагает к развитию дискинезий у пациентов, однако в значительной мере препятствует возникновению моторных флуктуаций по типу «включения-выключения» и застывания (Shoulson I. et al., 2002). Существенным недостатком селегилина является кардио- и психомоторное стимулирующее действие, вызываемое его метаболитами амфетамином и метамфетамином и усугубляющее реакции со стороны сердечно-сосудистой системы на терапию леводопой (Shin H.S., 1997). Более эффективным и безопасным представителем данной группы лекарственных средств является ингибитор МАО-В разагилин. Разагилин успешно применяется в качестве стартовой монотерапии БП и позволяет отложить начало приема других препаратов на срок около года. Кроме того, благодаря отсутствию амфетаминоподобного действия он хорошо сочетается с прочими средствами и позволяет уменьшить дозу леводопы. Как и в случае селегилина, благоприятного воздействия на проявление дискинезий не наблюдается, однако отмечается выраженный эффект в отношении основных моторных проявлений болезни – брадикинезии, тремора, постуральной нестабильности и нарушения походки (Chen J.J. et al., 2007; Elmer L.W., 2013). В число побочных эффектов разагилина входят тревожность, нарушение сна, галлюцинации, синкопальные состояния, гипертензия и ортостатическая гипотензия, головные боли и головокружение, тошнота, набор или потеря веса, сыпь (Mínguez-Mínguez S. et al., 2013). Третий

представитель группы – сафинамид – представляет собой обратимый ингибитор МАО-В (Marzo A. et al., 2004) с дополнительным антиглутаматергическим действием, обусловленным модуляцией активности потенциалзависимых натриевых, а также кальциевых ионных каналов (Cassia C. et al., 2008). Помимо выраженного положительного влияния на двигательную активность пациентов и некоторые немоторные проявления БП (настроение, боль и др.) при применении сафинамида наблюдается антидискинетическое действие, а также сокращение длительности и тяжести периодов «выключения» (Grégoire L. et al., 2013; Podurgiel S. et al., 2013; de Souza R.M., Schapira A., 2017). Сафинамид, как и разагилин, можно безопасно комбинировать с другими антипаркинсоническими препаратами. В ходе клинических испытаний было выявлено небольшое количество побочных, среди которых тошнота, головокружение, сонливость, головная боль, боль в спине и временная дискинезия без существенного негативного влияния на сердечную деятельность (Cattaneo C. et al., 2003).

Перспективную группу препаратов с принципиально новым механизмом действия представляют антагонисты аденозиновых рецепторов A2A. На данный момент эта группа включает один препарат истрадефиллин, зарегистрированный в Японии в 2013 году. Кроме того, на разных стадиях разработки находятся агенты преладенант, випаденант, тозаденант и многие другие (Pinna A., 2014). Механизм действия этих веществ основан на реципрокных антагонистических взаимоотношениях между A2A-рецепторами аденозина и D2-рецепторами дофамина, которые совместно экспрессируются на мембранах нейронов базальных ганглиев. Показано, что блокада рецепторов A2A облегчает дофаминергическую нейротрансмиссию и вызывает локомоторную активацию. При этом расположение данных рецепторов практически исключительно в обогащенных дофамином структурах головного мозга, предоставляет широкие возможности модуляции моторных функций без риска вызвать побочные эффекты

антагонистов аденозина со стороны сердечно-сосудистой системы (Ferré S. et al., 1997; Liu Y.J. et al., 2019). В ходе клинических испытаний истрадефиллина было показано, что применение препарата в комбинации с леводопой способствует улучшению двигательной активности пациентов, а также приводит к сокращению периодов «выключения», что, впрочем, касается лишь неосложненных случаев дискинезии (Hauser R.A. et al., 2003; Le Witt P.A. et al., 2008; Factor S. et al., 2010). При монотерапевтическом применении, однако, препарат демонстрирует весьма умеренную антипаркинсоническую активность (Fernandez H.H. et al., 2010), хотя в подобных экспериментах на животных моделях были достигнуты значительные результаты (Kanda T. et al., 1998; Shiozaki S. et al., 1999; Pinna A. et al., 2007). Установлено, что данное средство эффективно при застываниях и нарушениях походки (Iijima M. et al., 2019), а также таких инвалидизирующих проявлениях поздней дискинезии как синдром «пизанской башни» и камптоцефалия (Deutschländer A.B., 2019). Истрадефиллин характеризуется хорошей переносимостью, в качестве побочных эффектов выделяют тошноту, головокружение, бессонницу и в ряде случаев – усугубление дискинезии (Hauser R.A. et al., 2003; Le Witt P.A. et al., 2008; Factor S. et al., 2010).

Исходя из всего вышесказанного, можно заключить, что на данный момент на фармацевтическом рынке представлен широкий спектр антипаркинсонических препаратов с доказанной эффективностью, улучшающих качество жизни больных. И все же данные средства при индивидуальном применении или в комбинации друг с другом не решают основную проблему БП – не предотвращают прогрессирующую дегенерацию nigrostriарных нейронов, лежащую в основе патогенеза заболевания. Таким образом, одним из главных исследовательских направлений, связанных с БП, является разработка фармакотерапевтических агентов с анти-патогенетическим, нейропротекторным механизмом действия. Особенно

перспективным представляется поиск новых соединений с антипаркинсонической активностью среди веществ растительного происхождения благодаря их многогранной биологической активности и низкой токсичности.

1.2. Болевой синдром и принципы его лечения.

Течение большинства заблеваний сопровождается болевым синдромом разной степени выраженности. Болевые ощущения различной этиологии и интенсивности могут испытывать абсолютно все возрастные и гендерные группы людей, не зависимо от расы и социального положения. Определение понятия «боль» было дано в 1979 году Международной Ассоциацией по Изучению Боли и гласило следующим образом: боль - это неприятное ощущение и эмоциональное переживание, ассоциированное с настоящей или потенциальной угрозой повреждения тканей (Merskey H., Bogduk N., 1994). Это определение до сих пор пользуется большой популярностью среди современных ученых. В 1986 году Манфред Зиммерман дополнил его, указав важный момент того, что результатом нанесения болевых стимулов является обучение животных избегающему поведению. (Le Bars D., et al., 2001). Переходя от млекопитающих в целом непосредственно к человеку, боль можно так же определить, как реализацию сигналов повреждения тканей в ЦНС (Chapman C.R., 2005).

Существуют две противоположные системы, отвечающие за формирование болевых ощущений, это так называемые ноцицептивная и антиноцицептивная системы. Ноцицептивная (от греч. «носео» – повреждать) система воспринимает, проводит и формирует реакцию на болевые ощущения (как на сознательном, так и на бессознательном уровне). Субъективное переживание боли человеком включает в себя интеграцию сенсорных, эмоциональных и когнитивных аспектов. (Loeser J.D., Treede R.D., 2008). Ноцицептивная передача сигналов начинается с трансдукции раздражающего стимула (теплового, механического или химического) на

периферии в нейрональную активность специализированных классов сенсорных афферентных нейронов. Потенциалы действия перемещаются в тела клеток, расположенные в ганглиях задних корешков (ГЗК) спинного мозга, а затем в синапс в поверхностном дорсальном роге спинного мозга. Здесь происходит объединение поступающих сигналов с периферической нервной системы с нисходящей супраспинальной модуляцией перед передачей выходного сигнала по нескольким восходящим путям в ствол мозга, таламус и другие высшие области мозга, участвующие в сенсорных и аффективных компонентах боли (Millan M.J., 1999).

Антиподом ноцицептивной системы является антиноцептивная система, представляющая собой иерархическую совокупность нервных структур на разных уровнях ЦНС, с собственными нейрохимическими механизмами, и оказывающее тормозное влияние на деятельность ноцицептивной системы. Антиноцицептивной система нарушает рецепцию боли, проведение болевых ощущений и формирование реакции на боль. По принципу отрицательной обратной связи болевые импульсы возбуждают нейроны антиноцицептивной системы. Таким образом, регуляция болевых ощущений осуществляется путем постоянного взаимодействия этих двух систем (Венгеровский А.И., 2007). Морфологически антиноцицептивная система состоит из нейронов, тела которых располагаются в различных частях центральной нервной системы. В рамках нее выделяют опиоидную и каннабиноидную системы (Bushlin I., et al, 2010).

Если говорить о боли в целом, исходя из ее адаптационной роли, можно выделить две ее составляющие – это эпикритическая и протопатическая боль (Кривошапкин А.Л., 1997).

Эпикритическая боль является эволюционно более новым защитным механизмом и служит для распознавания точной локализации нанесения болевого стимула, она вызывается подпороговыми импульсами и эмоционально не окрашена, короткого действия. Возникает, например, при

уколе иглой или прикосновении к горячему. Субстратом этого чувства является соматосенсорная кора постцентральной извилины (Zhuo M., et al, 2011). Импульсы в эту область поступают от специфических ядер таламуса, к которым, в свою очередь, они поступают через спиноталамический (неоспиноталамический) тракт от болевых рецепторов, расположенных в коже, суставах и в эпителии обоих концов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), которые представляют собой древовидно-разветвленные окончания биполярных нейронов и реагируют на сильные механические и термические раздражения, по быстрым миелинизированным волокнам А-δ, поэтому такую боль еще называют быстрой (Кривошапкин А.Л., 1997).

Протопатическая боль, эволюционно более древняя, эмоционально окрашена, длительна и не имеет точной локализации. Такая боль характерна для воспалительных процессов внутренних органов. За формирование этого чувства отвечает фронтальная кора и кора цингулярной извилины, информация поступает туда от неспецифических ядер таламуса, на котором заканчиваются нейроны спиноталамического (палеоспиноталамического) пути. Первичным звеном формирования протопатической боли являются неспецифические рецепторы, представленные некапсулированными гломерулярными тельцами, находящимися повсеместно. Они реагируют на механические, термические и химические раздражители, возбуждение от них несут медленные немиелинизированные С волокна, поэтому протопатическая боль еще называется медленной (Кривошапкин А.Л., 1997).

1.2.1. Опиоидная система.

Опиоидная система представлена опиоидными рецепторами, их эндогенными агонистами (опиоидными пептидами) и ферментами, осуществляющими синтез и инактивацию этих агонистов. У человека и животных идентифицированы агонисты названных рецепторов, которые

представляют собой вещества пептидной природы (эндорфины, энкефалины, динарфины, эндоморфины).

Опиоидные рецепторы (ОР) были открыты в 70-х годах прошлого столетия, когда у млекопитающих были обнаружены участки связывания опиатов (препаратов, полученных из сока мака) (Corbett A.D., et al., 2006; Smith H.S., 2008). Эти рецепторы представляют собой первое звено афферентной части антиноцицептивной опиоидной системы. В 60-х – 70-х годах была открыта гетерогенность опиоидных рецепторов. Мартин У.Р. с соавторами (1979г.) нашли доказательства того, что опиоиды активируют три разных типа рецепторов: мю- (μ), каппа- (κ) и сигма- (σ), которые активируются морфином, кетациклазоцином и N-аллилнорметазоцином (SKF 10047), соответственно (Corbett A.D., et al., 2006; Martin W.R., 1979). Позднее, после того, как открыли эндогенные опиоиды лей-энкефалин и мет-энкефалин, был идентифицирован еще один тип ОР – дельта- (δ) (Corbett A.D., et al., 2006). В 90-х годах μ , δ и κ рецепторы были клонированы и была доказана их принадлежность к классу G-белок-связанных. В последствии было еще открыто несколько предполагаемых опиоидных рецепторов (ϵ , ζ и σ) (Dietis N., et al., 2011), однако, большого значения в современной фармакологии они не нашли и действие существующих на рынке наркотических анальгетиков основывается на их влиянии на три основных класса ОР: μ , κ и σ (Feng Y., et al. 2012; Trescot A.M., et al., 2008). Но основной мишенью для большинства современных опиоидных агонистов является μ -ОР (Friedman A, Nabong L., 2020). Некоторые ученые так же относят ноцицептин-орфановые рецепторы (NOR) к опиоидным рецепторам на основании структурного сходства с основными рецепторами этого класса (Corbett A.D., et al, 2006; Henriksen G., Willoch F., 2008), однако эндогенные и экзогенные опиоиды не являются его лигандами.

Опиоидные рецепторы относятся к G-белок связанным (Smith H.S., 2008), и, что характерно для этой группы рецепторов, имеют семь

трансмембранных доменов (спиралей), NH_2 -конец, который располагается внеклеточно и COOH -конец, находящийся внутриклеточно, оба эти конца состоят из трех петель (Quock R.M., et al, 1999; Лишманов Ю.Б. и др., 2006).

Эти рецепторы располагаются на постсинаптической и пресинаптической мембранах. Они передают сигнал в клетку путем активации G-белков, которые ингибируют аденилатциклазу, что тормозит синтез циклического аденозинмонофосфата, который взаимодействует с ионными каналами. В результате открываются K^+ каналы (μ и δ) и закрываются Ca^{2+} (κ), что ведет к гиперполяризации клетки, в следствии этого не возникает потенциал действия, что приводит к тому, что из пресинаптического нервного окончания не выделяется нейромедиатор, конечным итогом этого является блокада передачи нервного импульса (Corbett A.D., et al., 2006).

μ -Опиоидные рецепторы расположены в различных частях головного мозга: в хвостатом ядре (наибольшая концентрация), миндалине, гиппокампе, таламусе, гипоталамусе, околопроводниковом сером веществе, новой коре. Через них опосредуются такие эффекты, как супраспинальная анальгезия, седативный эффект, эйфория, лекарственная зависимость, гипотермия, угнетение дыхания, сужение зрачков, влияние на аппетит, влияние на процессы обучения и памяти. Рецепторы, расположенные в спинном мозге и спинальных ганглиях, определяют спинальную анальгезию; в гладких мышцах желудочно-кишечного тракта ответственны за увеличение тонуса гладкой мускулатуры; в гладких мышцах дыхательной системы отвечают за бронхоспазм; в выделительной, репродуктивной системах, в иммунных и эндотелиальных клетках оказывают влияние на давление крови, ангиогенез, иммуносупрессию (Quock R.M., et al., 1999; Smith H.S., 2008; Friedman A, Nabong L., 2020).

δ -Опиоидные рецепторы находятся в головном мозге, наибольшее количество расположено в обонятельной луковице (принимают участие в

регуляции обоняния). Рецепторы, находящиеся в новой коре оказывают влияние на познавательную деятельность и настроение; в стриатуме участвуют в регуляции двигательной активности; в таламусе, гипоталамусе участвуют в регуляции гипотермия и стимуляции секреции гормона роста; в стволе мозга – в функционировании сердечно-сосудистой системы, угнетении дыхания, центральном гипотензивном действии; в гладких мышцах висцеральных органов – в моторике желудочно-кишечного тракта. Основное значение этих рецепторов заключается в регулировании эмоциональной сферы: прежде всего депрессии и тревожности: (Jutkiewicz E.M., 2006). δ -Опиоидные рецепторы принимают участие в формировании наркотической зависимости, модуляции хронической боли, ноцицепции на периферии (Vanderah T.W., 2010; Friedman A, Nabong L., 2020) (но в меньшей степени). В последнее время появились данные об участии этих рецепторов в кардиопротекторной и нейропротекторной защите (Feng Y., et al., 2012). Эндогенными лигандами δ -ОР являются β -эндорфин, лей-энкефалин, мет-энкефалин, динарфин А (Henriksen G., Willoch F., 2008).

κ -Опиоидные рецепторы, находящиеся в головном мозге принимают участие опосредовании седативного и психотомиметического действия, в пищевой и питьевой мотивации, супраспинальной анальгезии. Расположенные в спинном мозге κ -опиоидные рецепторы задействованы в спинальной анальгезии, в гладких мышцах висцеральных органов – в спазме гладкой мускулатуры. Основное значение κ -ОР заключается в седативном и психотомиметическом действии, анальгетическом действии (Wang Y.H., et al., 2010; Walker J.M., et al., 1999). Разработка лекарственных средств с использованием κ -ОР в качестве мишени на сегодняшний день приостановлена в связи с развитием выраженного дисфорического эффекта при воздействии на эти рецепторы (Friedman A, Nabong L., 2020)

Ноцицептин-орфановый рецептор (NOR) относят к классу опиоидных рецепторов по структурной аналогии и по механизму действия, он так же

является G-белок связанным и реализует свой эффект посредством активации K^+ и блокады Ca^{2+} каналов (Layne K., Wood D.M., 2019). Однако этот рецептор, в отличие от классических опиоидных, способствует не анальгетическому эффекту, а наоборот, повышает болевую чувствительность. Единственным его эндогенным агонистом является ноцицептин (Quock R.M., et al., 1999). Орфановые рецепторы имеют преимущественную локализацию в спинном и головном мозге (Mollereau C., et al, 1994).

Медиаторами опиоидной антиноцицептивной системы являются эндогенные пептиды: лей-энкефалин (тирозин-глицин-глицин-фенилаланин-лейцин), мет-энкефалин (тирозин-глицин-глицин-фенилаланин - метионин), динарфин А (17 аминокислот, включая пентапептид лей-энкефалина), динарфин В (13 аминокислот, включая пентапептид лей-энкефалина) и бета-эндорфин (31 аминокислота, включая пентапептид мет-энкефалина) (Quock R.M., et al., 1999). Они образуются в результате протеолиз проопиомеланокортина, проэнкефалина-А и проэнкефалина-В (продинарфин), которые содержатся в коре больших полушарий, полосатом теле, лимбической системе, гипоталамусе, продолговатом и спинном мозге, гипофизе, периферических нервных сплетениях и мозговом слое надпочечников (Corbett A.D., et al, 2006).

1.2.2.Каннабиноидная система

Каннабис (лат. Cannabis) — род однолетних лубоволокнистых травянистых растений семейства коноплевых (Cannabaceae). Имеются сведения об использовании конопли в Китае примерно 2800 г. до н. э. (см. Шень Нун) лет назад в качестве лекарственного средства при малярии, запорах, ревматической боли, родах, а в смеси с алкоголем — для обезболивания при хирургических вмешательствах (Leung L., 2011). В Европе широкое использование каннабис в качестве лекарственного средства

начинается только в XIX веке (Farrimond J.A. et al, 2011). В 1852 году растение вошло в фармакопею США, где тоже стало широко использоваться. Пиком использования конопли в Европе и США можно считать конец XIX, начало XX века, после чего его применение в медицине резко сократилось в связи с вариабельностью активности, непредсказуемостью побочных эффектов (вследствие недостаточной изученности), появлением сильных альтернативных препаратов синтетического происхождения и, что не мало важно, вследствие использования каннабиса как развлечения. Использование конопли объявлено вне закона в 1928 году в результате ратификации Женевской конвенции 1925 года (Антоненко Г.Г., Юрьев К.Л., 2005).

Однако исследования ученых по поиску механизма действия препаратов конопли не прекращались. Сначала были идентифицированы активные вещества конопли – экзогенные каннабиноиды: канабинол (1895г.), каннабидиол (1934), дельта-9-тетрагидроканнабинол (ТГК) – основной психоактивный компонент конопли (1964) и многие другие. После этого, в 1988 году была впервые описана клеточная мишень ТГК, охарактеризованная позднее, как каннабиноидный рецептор первого типа CB1.

Каннабиноидные рецепторы являются G-белок связанными и находятся на пресинаптической клеточной мембране. В настоящее время признанно существование двух их подтипов: каннабиноидные рецепторы первого (CB1) и второго типа (CB2). Активация обоих подтипов каннабиноидных рецепторов ведет к ингибированию аденилатциклазы через ее взаимодействие с α -субъединицей (Bushlin I., et al, 2010). При этом каннабиноидные CB1 рецепторы модулируют кальциевую и калиевую проводимость, ингибируя поступление Ca^{2+} в клетку (закрытие Ca^{2+} -каналов) и активируя выход калия из клетки (открытие K^{+} -каналов), что в конечном итоге способствует снижению нервного возбуждения. Активация каннабиноидных CB1 и CB2 рецепторов повышает экспрессию МАРК и транскрипционного фактора Krox-2, и не влияет на ионную проводимость K^{+}

и Ca^{2+} каналов. CB1 модулируют продукцию оксида азота, влияют на проводимость натриевых каналов и Na^+/H^+ обменник (Josée G. and Andrea G.H., 2009).

CB1 каннабиноидные рецепторы находятся, главным образом, в ЦНС и, гораздо меньше, в периферических тканях: в надпочечниках, жировой ткани, сердце, легких, печени, предстательной железе, матке, миндалинах и на пресинаптических участках периферических нервов. В ЦНС они находятся на участках, включающих периакведукулярное серое вещество, ростральный вентромедиальный отдел продолговатого мозга, задние корешки спинного мозга, таламус, миндалину и кору мозга, в гиппокампе (преимущественно в зубчатой извилине), бледном шаре и черном веществе ретикулярной формации. Таким образом, CB1 рецепторы располагаются на всех участках пути проведения болевого импульса, как периферических, так и центральных, что показывает анатомическую природу анальгетического эффекта каннабиноидов (Josée G., Andrea G.H., 2009). Важно так же отметить, что CB1 рецепторы имеют очень низкую концентрацию на участках ствола мозга, отвечающих за сердечный ритм и дыхательную систему, что объясняет низкую токсичность и отсутствие летальности при отравлениях марихуаной, которая является наркотическим средством, полученным из конопли (Rahn E.J. et al, 2009). Каннабиноидные CB2 рецепторы располагаются в иммунокомпетентных органах, таких, как селезенка, миндалины и тимус, на тучных клетках, T4 и T8-лимфоцитах, В-лимфоцитах, натуральных киллерах, микроглии, макрофагах, и, в меньшей степени, на моноцитах и полиморфноядерных нейтрофилах. Раньше считалось, что CB2 рецепторы располагаются только на периферии, однако они были найдены в головном мозге, спинальных ганглиях, и поясничном отделе спинного мозга на чувствительных нейронах и клетках микроглии. В настоящее время были получены данные о существовании еще нескольких

типов каннабиноидных рецепторов, таких, как GPR3, GPR6, GPR12 и GPR55 (Josée G., Andrea G.H., 2009).

Эндоканнабиноиды – это соединения, вырабатываемые в организме человека, имеющие эффекты, сходные с экзогенными каннабиноидами. Первыми были открыты эндоканнабиноиды анандамид и 2-арахидонилглицерин (2-АГ), они являются наиболее изученными на данный момент времени. Компоненты эндоканнабиноидной системы включают связанные с G-белком каннабиноидные рецепторы CB1 и CB2, их эндогенные лиганды анандамид и 2-АГ и их соответствующие основные синтетические (N-ацилфосфатидилэтаноламинфосфолипаза D (NAPE-PLD), диациглицероллипаза α (DAGL α)) и деградирующие (гидролаза амидов жирных кислот (FAAH) и моноацилглицерол липаза (MAGL)) ферменты. Эти компоненты экспрессируются почти повсеместно во всех ноцицептивных путях, и, таким образом, через экзогенные каннабиноидные лиганды или усиление эндогенной передачи сигналов могут регулировать передачу ноцицептивных сигналов на разных уровнях передачи нервного импульса: на периферии (Guindon G, Beaulieu P., 2009), спинном роге спинного мозга и в надспинальных областях мозга, связанных с болью (Hohmann A.G, 2002; Nyilas R. et al., 2009; Sagar D.R. et al, 2010; Woodhams S.G et al., 2012). Эндоканнабиноиды (анандамид и 2-АГ) вызывают краткосрочные антиноцицептивные эффекты благодаря их действию в качестве ретроградных транмиттеров пресинаптических ингибирующих, связанных с G-белком рецепторов CB1, с продолжительностью эффекта, ограниченного их быстрой ферментативной деградацией. Эндоканнабиноиды играют ключевую роль в разрешении острых болевых состояний (Alkaitis M.S. et al., 2010), их повышенный уровень обнаруживается в различных участках ноцицептивных путей при хронической боли (Sagar D.R. et al., 2009; Sagar D.R. et al., 2012; Guindon J. et al., 2013), что подчеркивает их роль как эндогенных анальгетиков.

Намного меньше известно о физиологической роли идентифицированных позднее эндогенных лигандов: ноладина эфир, виродамин и N-арахидоноилдофамин (NADA). Механизм работы эндоканнабиноидов очень необычен, поскольку не обнаружены нейроны, трансмиттерами которых были бы эндоканнабиноиды. Они выполняют свою, специфическую функцию контроля передачи нервного импульса в синапсах ГАМК-ергических и глутаматергических нейронов, ингибируя возникновение потенциала действия в ГАМК-эргических нейронах, они «тормозят торможение»

Эндоканнабиноиды, в отличие от других нейротрансмиттеров, не выделяются из синаптических пузырьков, находящихся в нервном окончании, а быстро синтезируются непосредственно из компонентов постсинаптической клеточной мембраны (получившихся в результате расщепления фосфолипидных предшественников) при ее стимуляции. Такой механизм имеет место быть благодаря высокой липофильности эндоканнабиноидов, которая и обуславливает невозможность их хранения. (Josée G., Andrea G.H., 2009).

Анандамин синтезируется из фосфолипидного предшественника N-арахидоноил-фосфатидилэтаноламина (NAPE) путем гидролиза NAPE при участии фермента фосфолипазы D (NAPE-PLD). NAPE получается в свою очередь из арахидоновой кислоты с помощью фермента N-ацил-трансферазы (NAC) (Josée G., Andrea G.H., 2009). Однако в последнее время предполагают наличие других путей синтеза анандамина.

Синтез 2-АГ состоит из двух этапов. Сначала предшественник 2-АГ диацилглицерол (DAG) формируется из фосфолипидного предшественника клеточной мембраны с помощью фосфолипазы C (PLC), а потом он гидролизруется до 2-АГ при участии фермента диацилглицерол липазы (DAGL) (Lin X.H. et al., 2009).

После того, как эндогенные каннабиноиды синтезируются (на мембране постсинаптической клетки) и выходят в межклеточное пространство, они могут взаимодействовать с каннабиноидными рецепторами, расположенными пресинаптически (Josée G., Andrea G.H., 2009). При этом анандамин преимущественно связывается с CB1 рецептором, активируя его (Rahn E.J. et al., 2009). 2-АГ активирует оба CB1 и CB2 рецептора (Hanus L., et al., 2001), его концентрация в головном мозге в 170 раз выше, чем анандамида. Обратный захват эндоканнабиноидов в на сегодняшний момент изучен недостаточно, поскольку не найдено селективных транспортеров для этих соединений. Доказано наличие диффузии по градиенту концентрации этих молекул. Однако тот факт, что захват каннабиноидов селективно ингибируется рядом веществ, говорит в существовании селективных транспортеров, структуру которых еще предстоит открыть (Josée G., Andrea G.H., 2009). Существуют два фермента, участвующие в деградации эндоканнабиноидов, это FAAH и MAGL. Распад анандамида контролируется преимущественно ферментом FAAH, который гидролизует его до арахидоновой кислоты и этаноламина. Он найден в больших концентрациях в печени, тонком кишечнике, мозге, яичках. В ЦНС он найден в большом количестве в спиноталамическом тракте, вентролатеральных ядрах таламуса (это структуры, относящиеся к проведению болевой чувствительности), а также в клетках спинальных ганглиев. Это постсинаптический фермент и может инактивировать анандамид фактически на месте его синтеза. Расщепление 2-АГ происходит преимущественно под контролем MAGL, который гидролизует его до арахидоновой кислоты и глицерола (Lin X.H. et al., 2009). Этот фермент найден в головном мозге крыс, преимущественно в коре, таламусе, гиппокампе и мозжечке. Он локализован пресинаптически и только в терминалях аксонов. Считается возможным существование многих других путей метаболизма эндоканнабиноидов, например, окислительный метаболизм, при котором они

трансформируются в биологически активные медиаторы, метаболизм с участием циклооксигеназы, липоксигеназы, и цитохрома P450 (Josée G., Andrea G.H., 2009; Rahn E.J. et al., 2009).

Важно отметить, что при системном и локальном введении ингибиторов обратного захвата эндоканнабиноидов и ингибиторов ферментов, инактивирующих эндоканнабиноиды (MAGL и FAAH), уменьшается восприятие болевых ощущений. В последнее время активно ведутся работы по изучению антиноцицептивной функции эндоканнабиноидов, в особенности анандамида и 2-АГ. В этих исследованиях была показана функциональная роль эндоканнабиноидов в подавлении болевой чувствительности при стрессе (стресс-индуцированная антиноцицепция), осуществляемая через CB1 каннабиноидные рецепторы (Walker J.M., 1999). При этом показано повышение уровня анандамида и 2-АГ в периакведуктальном сером веществе среднего мозга, перивентрикулярном сером веществе ростральных отделов продолговатого мозга (Josée G., Andrea G.H., 2009). Введение смешанных агонистов (левонантродол) в субарахноидальное пространство позвоночника крыс, привело к снижению болевой чувствительности, вызванной сдавлением спинного мозга и повреждением седалищного нерва. При этом было показано снижение антиноцицептивной активности в ответ на стимуляцию со стороны тонких болевых С-волокон (Kelly S., et al, 2001). Расположение каннабиноидных рецепторов в периферической нервной системе делает возможным использованием их в терапевтических целях, избегая при этом системных побочных эффектов.

1.2.3. Лечение болевого синдрома

Лечение болевого синдрома осуществляется как инвазивными, так и неинвазивными (фармакологическими) методами. Инвазивные методы используются для непосредственного устранения источника боли, если это

возможно. В остальных случаях используют системные анальгетики.

Первым шагом в выборе анальгетических средств является определение источника боли. Классифицировать источник боли предпочтительно с помощью руководства Международной ассоциации по изучению боли (Merskey H. et al., 1979). Выделяют два компонента болевого синдрома: эмоциональный, вызванный потенциальным повреждением тканей, и сенсорный, вызванный фактическим повреждением тканей. Сенсорный компонент в свою очередь разделяют на ноцицептивный (соматическая и висцеральная) и нейропатическую боль (положительную и отрицательную). На схеме представлена классификация боли и рекомендации по выбору анальгетиков (рис. 2.1).

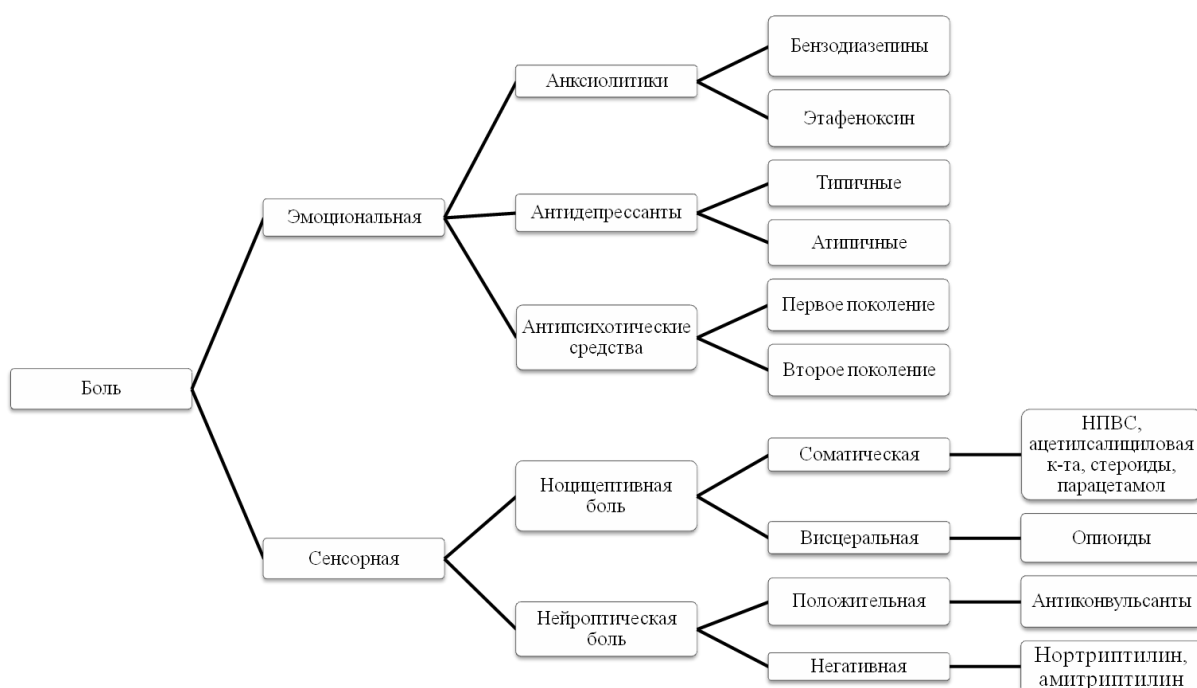


Рисунок 2.1. – Выбор обезболивающего препарата в соответствии с классификацией болевого синдрома.

Соматическая ноцицептивная боль, которую можно разделить на поверхностные и глубокие категории, поддается эффективному лечению с помощью нестероидных противовоспалительных средств (НПВС),

парацетамола (ацетаминофен, N-ацетил-пара-аминофенол), ацетилсалициловой кислотой и стероидными препаратами. Висцеральная ноцицептивная боль, обычно, реагирует на терпию наркотическими анальгетиками – опиоидами. Для лечения нейропатической боли предпочтительно использовать антиконвульсанты и антидепрессанты (Jensen T.S., Baron R., 2003; Bouhassira D. et al, 2004; Attal N. et al, 2008; Baron R. et al, 2017).

Еще одним критерием выбора фармакологического лечения боли является выбор анальгетического средства согласно «анальгетической лестнице», установленной в 1986 году ВОЗ (Leppert W, 2011). Она состоит из трех ступеней, основным критерием перехода с одной ступени на другую является интенсивность болевого синдрома. Так при небольшой и средней выраженности последнего назначают препараты из группы неопиоидных анальгетиков (НПВС, парацетамол), умеренной – слабые опиаты (кодеин), при сильной боли – сильные опиаты (морфин). Аджувантная терапия назначается во избежание страха и тревоги (Leppert W, 2011).

Используют варианты фармакологического лечения болевого синдрома, основываясь на классификации предполагаемого происхождения боли.

Ноцицептивная боль возникает в результате фактического или угрожаемого повреждения не нервной ткани, посредством активации ноцицепторов. В то время как нейропатическая боль вызвана поражением или травматизацией соматосенсорной нервной системы (Loeser J.D., Treede R.D., 2008).

Поверхностная соматическая ноцицептивная боль представляет собой хорошо разграниченную острую ноющую боль, в то время как глубокая соматическая ноцицептивная боль – это плохо ограниченная тупая боль. Висцеральная боль характеризуется тяжелой тупой болью с плохим разграничением. По сути, границами соматических и висцеральных структур

являются мозговая оболочка, плевра и перикард, брюшина.

Группа препаратов НПВС включает обезболивающие препараты, которые не относятся к классу стероидных препаратов и обладают противовоспалительными свойствами, жаропонижающим и анальгетическим эффектом. В той или иной степени, они реализуют свое действие на периферическом уровне. Под влиянием этих препаратов происходит угнетение синтеза простагландинов, медиаторов боли и воспаления, которые вызывают гипералгезию, в результате чего болевая реакция на различные медиаторы воспаления (гистамин, брадикинин) усиливается. Это происходит благодаря подавлению циклооксигеназы (ЦОГ), участвующей в синтезе простагландинов и тромбоксана. Это же свойство лежит в основе большинства побочных эффектов НПВС. ЦОГ традиционно делят на два вида: ЦОГ-1 – конструктивная изоформа циклоксигеназы при нормальном состоянии тканей, и ЦОГ-2 – индуцибельная воспалением изоформа оксигеназы. Однако данная классификация остается спорной по причине широкого обнаружения обоих типов циклооксигеназ в организме человека: в ЦНС, периферической нервной системе, ЖКТ, сердечно-сосудистой, эндокринной и репродуктивной системе. Все доступные в настоящее время НПВС обладают тремя типичными побочными эффектами: гастротоксичность, нефротоксичность и антиагрегантные свойства (Jacobsen R., et al., 2007).

Относительная селективность НПВС в отношении ингибирования ЦОГ-1 и ЦОГ-2 определяется по формуле ЦОГ-1/ЦОГ-2 (Handin R. I., 2016). Избирательность увеличивается в ряду перечисленных препаратов: аспирин, кеторолак, кетопрофен, индометацин, напроксен, ибупрофен, пироксикам, мелоксикам, диклофенак, целекоксиб, рофекоксиб (Handin R. I., 2016). Преимуществом селективных ингибиторов ЦОГ-2 является меньшая выраженность побочных эффектов (Харкевич Д.А., 2005).

Парацетамол оказывает свое действие на центральном уровне и его используют для лечения боли и лихорадки, но не воспаления или зуда. Механизм действия парацетамола до конца остается не выясненным, но считается, что его болеутоляющий и жаропонижающий эффекты связаны с ингибированием ЦОГ-3, что приводит к снижению синтеза простагландинов в ЦНС. Недостатком данной терапии является возможность тяжелого поражения почек, связанная с образованием токсического метаболита N-ацетил-п-бензохинонимина через систему цитохрома P450. С другой стороны, эта система слабо развита у детей, что обуславливает относительную безопасность применения этого препарата в данной группе пациентов (Smith H.S., 2009; Aminoshariae A., Khan A., 2015). Потенциальные механизмы анальгетического действия парацетамола связаны с влиянием на серотонинергические нисходящие тормозные пути и на взаимодействие с опиоидными системами.

Аспирин вызывает необратимое ингибирование ЦОГ, посредством ковалентной модификации ЦОГ-1 и ЦОГ-2 путем ацетилирования остатка серина. Необратимое ингибирование ЦОГ-1 обуславливает гастротоксические побочные эффекты аспирина начиная от гастрита и заканчивая язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки (Lucido M.J. et al., 2016). Кроме того, ЦОГ-1 является основной формой в зрелых тромбоцитах крови, где участвует в превращении арахноидоновой кислоты до тромбоксана A_2 (вазоконстриктора и активатора тромбоцитов). Этот механизм объясняет антитромботические свойства аспирина (Brune K. et al., 2015; Smith D.K. et al., 2019). Существует теория, согласно которой аспирин лишает ЦОГ-2 способности участвовать в синтезе простагландинов, но запускает способность ЦОГ-2 синтезировать новые защитные липидные медиаторы (аспирин-индуцированные липоксины). Другими словами, аспирин в отличие от НПВС превращает ЦОГ-2 в защитную

медиаторгенерирующую систему с противовоспалительными и прорезолюционными свойствами (Brune K. et al., 2015).

НПВС являются незаменимыми при лечении кратковременных, слабых и умеренных болей: зубной, головной, соматической, суставной. Их несомненным преимуществом является отсутствие такого грозного осложнения, как развитие наркотической зависимости, эффективное целенаправленное действие и редкость нежелательных проявлений при коротком применении. Однако эта группа препаратов не доказала своей эффективности при болях высокой интенсивности: механических, постоперационных и онкологических, что является минусом данной группы препаратов (Jacobsen R., et al., 2007).

Из-за присущих побочных эффектов (нарушение агрегации тромбоцитов, повреждение слизистой ЖКТ, головная боль, звон в ушах, расстройство психики, респираторный алкалоз, гипокалиемия, дегидратация тканей, кожные высыпания, геморрагии, и т. д.) назначать препараты данной группы рекомендуется на короткие промежутки времени, учитывая период их полураспада.

Стероидные препараты обладают способностью ингибировать как ЦОГ, так и липоксигеназу, что приводит к снижению выработки простагландинов и лейкотриенов. Лейкотриены являются медиаторами воспаления и включают дигидроксикислотные лейкотриены (ЛТВ₄) и цистеинильные лейкотриены (CysLT, LTC₄, LTD₄, LTE₄). Высокоаффинными рецепторами к лейкотриенам ЛТВ₄ являются рецепторы BLT1, к лейкотриенам LTC₄ и LTD₄ – CysLT₁ и CysLT₂, а к лейкотриенам LTE₄ – рецепторы GPR₉₉. Активация рецепторов BLT1 стимулирует дегрануляцию. Хемотаксис и фагоцитоз нейтрофилов, активация CysLT₁ и CysLT₂ индуцирует воспаление гладких мышц дыхательных путей и повышает проницаемость сосудов. То есть, лейкотриены задействованы в таких хронических процессах, как астма, атопический дерматит, псориаз, артрит,

ожирение, атеросклероз, рак и возрастная дегенерация (Vyvey M., 2010; Sasaki F., Yokomizo T., 2019). Таким образом, стероидные препараты проявляют обезболивающий эффект, оказывая противовоспалительное действие.

Однако стероидные препараты обладают широким спектром побочных эффектов: повышение сахара в крови, вплоть до стероидного диабета; угнетение синтеза белка приводит к мышечной слабости (миастения), мышечным болям, задержке роста; изъязвление слизистой желудка; повышение АД (сокращают сосуды и задерживают жидкость в организме); остеопороз (выводят кальций из костей); вызывают ожирение (нарушают жировой обмен); раннее развитие атеросклероза (повышают количество холестерина); снижение иммунитета; возбуждающее действие на ЦНС и психику; привыкание и соответственно “синдром отмены”.

Опиоиды в качестве анальгетиков используются вот уже более 5000 лет. Современная классификация наркотических анальгетиков основывается на их активности в отношении тех или иных опиоидных рецепторов (ОР) и включает четыре группы (Вейн А.М., Филатов А.Г., 1999): 1) полные агонисты (морфин, фентанил, промедол, кодеин, трамадол) их фармакологическое действие основывается на активации всех ОР; 2) частичные агонисты (бупренорфин) (Leppert W, 2011) слабее активирует μ -опиоидные рецепторы и является слабым антагонистом κ -ОР; 3) агонист-антагонисты (пентазоцин, буторфанол, албуфин); 4) антагонисты (налоксон и налтрексон). Плюсом препаратов является их несомненно более высокая эффективность по сравнению с другими группами (Вейн А.М., Филатов А.Г., 1999). Самый большой недостаток опиоидных анальгетиков – это развитие наркотической зависимости (Харкевич Д.А., 2005; Венгеровский А.И., 2007; Martini L., Whistler J.L., 2006), который в первую очередь связывают с действием на μ_1 -ОР.

Опиоидные средства эффективны как для соматической, так и для

висцеральной ноцицептивной боли, однако, их следует назначать только пациентам с незлокачественными расстройствами, если есть уверенность, что впоследствии применение этого препарата можно отменить.

В основе классификации опиоидных анальгетиков лежит морфин, который является эталоном сравнения для других препаратов этой группы (Венгеровский А.И., 2007; Corbett A.D. et al., 2006). Свойства наркотических анальгетиков зависят от типа рецепторов, на которые они влияют (μ , δ , или κ), от силы (полные, частичные) и направления (агонисты, антагонисты) этого воздействия. Если говорить в общем, фармакологический эффект наркотических анальгетиков связан с их действием на опиоидные рецепторы и активацией эндогенной антиноцицептивной системы (Харкевич Д.А., 2005). Эти лекарственные средства обладают чрезвычайно широким спектром действия, что обусловлено распространенностью опиоидных рецепторов в различных структурах ЦНС и гладкой мускулатуре (Венгеровский А.И., 2007). На уровне спинного мозга действие опиоидных анальгетиков реализуется через прямое подавление синаптической передачи, а также через активацию антиноцицептивной системы, медиаторами которой являются серотонин, норадреналин, эндопептиды: β -эндорфин, лей-энкефалин, мет-энкефалин, динорфин (Кривошапкин А.Л., 1997). На уровне таламуса они уменьшают суммацию болевых ощущений и ослабляют влияние на вегетативные и эмоциональные центры лимбической системы, ретикулярной формации, продолговатого и среднего мозга, гипоталамуса и коры больших полушарий, в результате чего ослабляются вегетативные и эмоциональные сопутствующие компоненты боли (Венгеровский А.И., 2007).

Самым большим минусом опиоидных анальгетиков является формирование наркотической (психической и физической) зависимости при их использовании (Тао L. et al., 2010). Психическая зависимость связана с желанием испытывать приятные ощущения, обусловленные эйфорией, физическая обусловлена образованием антител к ОР и десенсибилизацией

опиоидных рецепторов. Сначала к фосфорилированным ОР присоединяется белок цитозоля аррестин, затем – белок динамин. Образовавшийся комплекс перемещается в углубления на мембране, покрытые белком клатрином, и отшнуровываются, превращаясь в эндосомы. Этот процесс может иметь обратный ход, но чаще всего эндосомы подвергаются протеолизу. Таким образом, уменьшается количество ОР, что может вызывать последствия (Martini L., Whistler J.L., 2006).

При назначении лекарственной терапии болевого синдрома следует учитывать весь спектр фармакологических эффектов опиоидных анальгетиков, включая продолжительность и силу действия, наличие активных метаболитов, биодоступность при оральном введении, пути выведения и взаимодействие с другими препаратами (Smith H.S., et al., 2008). По химической структуре опиоидные анальгетики подразделяются на лекарственные средства природного происхождения, полусинтетические и синтетические. Природные и полусинтетические соединения относятся к производным фенантрена – трициклического ароматического углеводорода, находящегося в млечном соке головок снотворного мака. К ним относятся морфин, кодеин, бупренорфин, буторфанол, налоксона гидрохлорид. Синтетические же соединения относятся к группам пиперидина, который является шестичленным насыщенным циклом с одним атомом азота, а также бензоморфана и дифенингептана (Rahn E.J. et al., 2009).

Опиоидные анальгетические средства назначают в том случае, когда неопиоидные препараты, находящиеся на первой ступени «анальгетической лестницы» не справляются с задачей купирования боли. Переход на вторую ступень подразумевает назначение слабых опиоидов (трамадол, кодеин, дигидрокодеин). На третьей ступени находятся сильные анальгетики, такие как морфин, фентанил, оксикодон, бупренорфин, гидроморфин, метадон, тапенадол. Они назначаются при чрезвычайно выраженной боли (Leppert W. et al., 2011).

Лечение нейропатической боли должно основываться на обнаружении характерных признаков и симптомов с последующим определением их как негативных (уменьшение чувствительности при прикосновениях, вибрации, колющих воздействиях, прикосновениях тепла или холода) или позитивных (спонтанная или вызываемая боль) (Jensen T.S., Baron R., 2003; Bouhassira D. et al., 2004).

Для лечения нейропатической боли используют антиконвульсанты и некоторые виды антидепрессантов. Карбамазепин до сих пор считается препаратом первого ряда при лечении невралгии тройничного нерва (Di Stefano G. et al, 2018). Для более безопасного применения данного препарата рекомендуется монотерапия и титрование дозы с мониторингом концентрации метаболита карбамазепина (карбамазепин-10,11-эпоксид) в плазме крови, а также контроль общего анализа крови и функций печени (Fricke-Galindo I. et al, 2018).

Окскарбазепин был разработан на основе карбамазепина с целью уменьшения количества побочных эффектов, присущих карбамазепину. Механизм действия этих обоих препаратов заключается в блокаде натриевых каналов. Кроме того, окскарбазепин опосредует свое действие также через кальциевые каналы N-, P- и/или R-типа, а карбамазепин – через кальциевые каналы L-типа (Schmidt D., Ekger C.E., 2004).

Габапентин и прегабалин применяются в терапии других нейропатических болевых синдромов. Габапентин по строению сходен с нейротрансмиттером гамма-аминомасляной кислотой (ГАМК). Он не обладает ГАМК-ергическими свойствами и не влияет на захват и метаболизм ГАМК (Senderovich H., 2018). Имеются данные о том, что габапентин пресинаптически ингибирует глутаматергическую синаптическую передачу, преимущественно в поверхностной пластине заднего рога спинного мозга, в то время как постсинаптический препарат усиливает трансмиссию, опосредованную NMDA (N-methyl-D-aspartate)-рецепторами, в некоторых

нейронах глубокой пластины заднего рога спинного мозга (Coderre T.J. et al., 2005).

Прегабалин – противосудорожное средство, которое относится к габапентиноидам $\alpha 2\delta$ -лиганд, полученных из ГАМК, которая блокирует $\alpha 2\delta$ -субъединицы вольтаж-зависимых кальциевых каналов (Kim E.S., Deeks E.D., 2016). Прегабалин оказывает более сильное и длительное действие по сравнению с габапентином и применяется у пациентов с тяжело поддающейся терапией нейропатической болью (Yang J.Y. et al., 2013; Serpell M. et al., 2017).

Габапентин и прегабалин, как известно, оказывают неспецифичное воздействие на $\alpha 2\delta$ -1 и $\alpha 2\delta$ -2 рецепторы. Механизм анальгетического действия включает в себя связывание именно с $\alpha 2\delta$ -1 рецептором, в то время как влияние на $\alpha 2\delta$ -2 субъединицу приводит к развитию побочных эффектов центрального действия таких, как сонливость. Еще один препарат из этой группы - микрогабалин обладает выраженной селективностью и более медленной диссоциацией в отношении $\alpha 2\delta$ -1 лиганда, что способствует развитию менее выраженных побочных эффектов (Domon Y. et al., 2018; Javed S. et al., 2018).

Также для лечения нейропатической боли используется препарат нефопам – неопиоидное и нестреоидное анальгетическое средство центрального действия. Механизм действия нефопама окончательно не выяснен и предположительно связан с влиянием на серотониновые, дофаминовые и норадреналиновые рецепторы ЦНС. Обладает невыраженной м-холинолитической и симпатомиметической активностью. Не оказывает противовоспалительного и жаропонижающего действия. Не влияет на систему свертывания крови и не вызывает раздражения слизистой оболочки желудка, но вызывает развитие побочных эффектов, связанных с воздействием на ЦНС: головокружение, тахикардия, сонливость, холодное потоотделение (Max M.B., Gilron I.H., 2000).

Антидепрессанты используются в терапии отрицательной нейропатической боли и опосредуют свой анальгетический эффект через различные механизмы действия: блокаду норадреналина и серотонина; блокаду натриевых каналов; проявление антагонистических свойств в отношении глутаматных рецепторов; оказывают влияние на висцеральные нервные волокна (Choi Y.M., Kim K.H., 2015). Для лечения болевого синдрома обычно используют трициклические антидепрессанты (амитриптилин, имипрамин, кломипрамин), механизмом действия которых является ингибирование обратного захвата норадреналина и серотонина. Данный класс антидепрессантов обладает выраженными побочными эффектами в виде седации, постуральной гипотензии и аритмии (Shin S. W. et al, 2019).

Помимо сенсорной составляющей болевого синдрома, возникающей от фактического повреждения ткани, боли могут возникать от ощущения возможного повреждения ткани, для лечения которых выбирают анксиолитические, антипсихотические средства и антидепрессанты (Shin S. W. et al, 2019).

Антипсихотические средства (нейролептики) эффективны при болях у пациентов с положительными психотическими симптомами, связанными с нарушениями мезолимбических путей регуляции. Антипсихотические средства классифицируют на типичные и атипичные. Механизм типичных нейролептиков связан с воздействием на D_2 -дофаминовые рецепторы, что приводит к развитию экстрапирамидных расстройств (дистонию, псевдопаркинсонизм, дискинезию) и вызывают повышения уровня пролактина в сыворотке крови. В целях снижения выраженности этих побочных эффектов были разработаны атипичные нейролептики с пониженной аффинностью связывания с D_2 -дофаминовыми рецепторами, но усиленным сродством к 5-HT₂-серотониновым рецепторам. К побочным эффектам таких антипсихотических средств относятся сонливость, увеличение риска развития

метаболических синдромов (увеличение массы тела, диабет, дислипидемия) (Shin S. W. et al, 2019).

Если антипсихотические средства называют основными транквилизаторами, то анксиолитические средства известны, как второстепенные транквилизаторы. Типичными анксиолитическими препаратами являются бензодиазепин, барбитураты и этифоксин, опосредующие свой механизм действия через ГАМК-ергическую систему головного мозга. ГАМК-А рецептор состоит из 5 субъединиц: двух $\alpha_{(1-6)}$, двух $\beta_{(1-3)}$ и одного $\gamma_{(1-3)}$. Сайт связывания бензодиазепинов находится на границе между $\alpha 1$ и $\gamma 2$ субъединицами, для барбитуратов между $\alpha 1$ и $\beta 2$, а этифоксин напрямую воздействует на $\beta 2$ или $\beta 3$ субъединицу или косвенно активирует транслокаторный белок. За счет этого этифоксин вызывает меньше побочных эффектов по сравнению с бензодиазепинами, таких как седация, антероградная амнезия, нарушение психомоторной деятельности и синдром отмены (Choi Y.M., Kim K.H., 2015).

Существуют еще несколько групп препаратов, обладающих анальгетической активностью. Клофелин имеет выраженное болеутоляющее действие из-за влияния на α_2 -адренорецептры, подавляя реакцию на боль со стороны гемодинамики. Применение этого препарата ограничено его седативным и гипотензивным действием. Анальгетический эффект наблюдается при применении субнаркозных доз общих анестетиков, закиси азота, кетамина (неконкурентный антагонист глутаматных NMDA рецепторов). Так же противоболевым эффектом обладают некоторые антигистаминные (димедрол), соматостатин, кальцетонин (Харкевич Д.А., 2005).

Препараты каннабиноидов. В последние несколько десятилетий была обнаружена новая мишень – энодканнабиноидная система, которая вызывает интерес для разработки обезболивающих средств и совмещает в себе преимущества обезболивающих веществ и эндогенный путь контроля боли.

Препараты растения *Cannabis sativa* использовались в качестве анальгетиков на протяжении веков, но только в 1960-х годах был идентифицирован основной активный компонент (Δ^9 -тетрагидроканнабинол) (Mechoulam R., Gaoni Y., 1967). В 1990-х годах были обнаружены молекулярные мишени, опосредующие его эффекты (Devane W.A et al., 1988; Munro S. et al., 1993), а также выяснены механизмы и действия (Herkenham M. et al., 1990; Walker J.M., Hohmann, 2005; Gregg L.C. et al., 2012). Проведенные исследования показали существование второго эффективного эндогенного пути контроля боли, опосредованного через эндоканнабиноидную (ЭК) систему. Однако активное воздействие на систему ЭК также связано с нежелательными результатами, включая пагубное воздействие на память (Hall W., Solowij N., 1998), способность к обучению (Pattij T. et al., 2008) и настроение (Rubino T. et al., 2015), а также развитие толерантности и зависимости (Lichtman A.H., Martin B.R., 2005; Tappe-Theodor A. et al., 2007).

Действие препаратов каннабиноидов основывается на их прямом взаимодействии с каннабиноидными CB1 и CB2 рецепторами, а также с блокадой метаболизма ЭК или аллостерической модуляцией рецепторов CB1. Как уже описывалось ранее, каннабиноидные рецепторы располагаются в большом количестве в тех структурах ЦНС, которые отвечают за проведение болевых ощущений (периаквадукулярное серое вещество, ростральный вентромедиальный отдел продолговатого мозга, задние корешки спинного мозга, таламус, миндалина и кора мозга, а также гиппокамп, бледный шар и черное вещество ретикулярной формации), поэтому действие агонистов этих рецепторов имеет выраженный антиноцицептивный эффект. Механизмы действия экзогенных и эндогенных каннабиноидов подобны (Pertwee R.G., 2009). Они вступают во взаимодействие с каннабиноидными рецепторами, открываются K^+ каналы, в результате чего повышается выход K^+ из клетки, и блокируют Ca^{2+} -каналы,

препятствуя поступление в клетку Ca^{2+} . В результате происходит реполяризация мембраны и проведения нервного импульса не происходит.

Препараты каннабиноидов влияют на ЦНС, оказывая центральное симпатомиметическое действие, что проявляется увеличением частоты сердечных сокращений, покраснением конъюнктивы и ортостатической гипертензией, при которой пациенты могут попасть в обморочное состояние при вставании (Pertwee R.G., 2009). Антиноцицептивный эффект каннабиноидов проявляется благодаря их действию, в первую очередь, на CB_1 рецепторы, находящиеся в разных отделах ЦНС. Проходя через гематоэнцефалический барьер препараты действуют на центры голода и насыщения гипоталамуса, в результате чего происходит стимуляция аппетита, а при действии на рвотный центр продолговатого мозга уменьшается тошнота и рвота.

В настоящее время синтезировано множество соединений, активных в отношении каннабиноидных рецепторов. Их можно разделить, во-первых, по знаку действия: агонист-антагонист, а во-вторых, по направленности: селективные агонисты (антагонисты) CB_1 рецепторов, универсальные агонисты (антагонисты) CB_1 и CB_2 рецепторов и селективные агонисты (антагонисты) CB_2 рецепторов (Pertwee R.G., 2009). Анальгетической активностью обладают агонисты, как ранее считалось, CB_1 рецепторов, а по последним данным и CB_2 рецепторов (Onaivi E.S., 2011). Применяемые на данный момент препараты являются универсальными агонистами CB_1 и CB_2 рецепторов. Первым появился Цесамет (набинол), синтетический аналог тетрагидроканнабинола (ТГК), который был лицензирован в 1981 году для лечения тошноты и рвоты, вызванных химиотерапией. Чистый ТГК (Маринол, дронабинол) вошел в клинику в качестве противорвотного и стимулирующего аппетит средства, применяемого для лечения больных СПИДом с недостатком массы тела. В 2005 году появился препарат Сативэкс, содержащий натуральный каннабидиол и ТГК в равных

количествах, применяющийся как анальгетик для лечения невропатической боли и спастичности у больных с рассеянным склерозом и как дополнительный анальгетик для лечения болевого синдрома у больных с запущенной формой рака (Антоненко Г.Г., Юрьев К.Л., 2005).

Помимо разработки экзогенных каннабиноидов отдельного внимания заслуживают исследования и разработка веществ, оказывающее влияние на эндоканнабиноидную систему.

Анадамид (AEA) был первым идентифицированным эндоканнабиноидом (Devane W.A. et al., 1992), и в исследованиях влияния эндоканнабиноидной системы на болевые процессы была установлена его эффективность в качестве анальгетика на нескольких доклинических моделях острого заболевания (Calignano A. et al., 1998; Walker J.M. et al., 1999). Амидгидролаза жирных кислот (FAAH) была идентифицирована как главный фермент, разлагающий амиды жирных кислот, а также родственные соединения олеоилэтаноламин (OEA) и пальмитоилэтаноламин (PEA) (Cravatt B.F. et al., 1996). Были разработаны несколько классов соединений, способных ингибировать FAAH и, таким образом, способствовать передаче сигналов анамида (PF3845, PF-04457845, OL135, JNJ-1661010, URB597) и других амидов жирных кислот. (Ahn K. et al, 2009; Ahn K. et al., 2011; Chang L. et al., 2006; Karbarz M.J. et al., 2009). Данные соединения демонстрируют высокую специфичность к FAAH, значительно повышая уровни AEA, OEA и PEA в ЦНС и периферических тканях. Хотя OEA и PEA не являются эндоканнабиноидами, поскольку они не имеют сродства к каннабиноидным рецепторам, PEA обладает хорошо известными противовоспалительными свойствами действуя на рецепторы, активируемые пероксисомными пролифераторами (Alhouayek M., Muccioli G.G, 2014; LoVerme J. et al., 2006), а PEA и OEA способны повышать уровни AEA за счет конкуренции субстратов в FAAH (Di Marzo V. et al., 1994). Таким образом, эти N-ацилэтаноламины представляют интерес для исследования каннабиноидной

боли.

Ингибиторы ГААН также исследовались на противовоспалительную активность в доклинических моделях воспалительной боли. Эти модели включают нанесение провоспалительных веществ на заднюю лапу животных, что приводит к воспалению (отеку) и измеримому ноцицептивному поведению, включая аллодинию (усиление реакции на безвредные уровни кожной стимуляции) и гипералгезию (усиление реакции на травмирующие уровни кожной стимуляции). Было показано, что как не проникающие через ГЭБ (Clapper J.R. et al., 2010), так и проходящие через него в головной мозг ингибиторы ГААН подавляют воспалительную боль, вызванную формалином, каррагинаном и полным адьювантом Фрейнда (CFA) (Guindon G., Hohmann A., 2009). Системное ингибирование ГААН опосредует противовоспалительный эффект в модели каррагинанового воспаления у мышей, действуя CB2-канабиноидные рецепторы (Holt S. et al., 2005) и вызывает опосредованную CB1-канабиноидными рецепторами антиноцицепцию в модели индуцированного адьювантом артрита у крыс (Wilson A.W. et al., 2005). Несколько различных классов ингибиторов ГААН снижают ноцицептивное поведение животных в доклинических моделях воспалительной боли *in vivo*, механизм которого связан с CB1 и CB2, но не с TRPV1, PPAR α или μ -опиоидными рецепторами (Booker L. et al., 2012).

Многочисленные исследования выявили выраженную анальгетическую активность, проявляемую ингибиторами ГААН на моделях нейропатической боли. В модели хронического сдавливающего повреждения на мышцах несколько исследований продемонстрировали антиноцицептивные эффекты ингибиторов ГААН, которые, по-видимому, действуют как CB1, так и CB2 - канабиноидные рецепторы (Russo R. et al., 2007; Kinsey S.G. et al., 2009; Kinsey S.G. et al., 2010; Carey L.M. et al., 2016). Напротив, антиноцицептивные эффекты ингибирования ГААН в модели частичного лигирования седалищного нерва у мышей зависели только от CB1-канабиноидных

рецепторов. (Desroches J. et al., 2014), тогда как в модели лигирования спинномозгового нерва у крыс в механизм анальгетического действия вовлечены как CB1, так и CB2 (Chang L. et al., 2006; Jhaveri M.D. et al., 2006; Karbarz M.J. et al., 2009). Интересно, что в другом исследовании не было обнаружено какого-либо эффекта ингибирования FAAH в модели частичного лигирования седалищного нерва у крыс (Jayamanne A. et al., 2006), что предполагает существование специфичных для вида и моделей механизмов.

В ходе клинических испытаний ингибитор FAAH PF-04457845 успешно прошел первую фазу, но, несмотря на то, что он значительно повышает уровень анадмида в периферической крови, не смог вызвать значительной анальгезии в исследовании фазы II у пациентов с поздней стадией остеоартрита (Huggins J.P. et al., 2012). Толерантность к постоянно повышенным уровням АЕА может возникать при хроническом ингибировании FAAH, на что указывает отсутствие эффекта хронического ингибирования FAAH в модели воспалительной боли, вызванной введением каррагинана у крыс (Okine B.N. et al., 2012). В случае с остеоартритом, например, важно оценить эффективность на более ранних стадиях заболевания, когда толерантность к хронически повышенным эндоканнабиноидам еще не возникла. Кроме того, недавние клинические оценки эффективности каннабиноидов при болевых состояниях (Lichtman A.H., Charman A., 2011), показали, что положительное влияние на сопутствующие болевые ощущения, включая расстройства настроения, потерю аппетита и нарушение сна, может преавлирывать над сенсорным восприятием боли.

Другой ингибитор FAAH, BIA-102474, привел к тяжелой неврологической токсичности в более позднем исследовании фазы I, что привело к смерти одного из участников и необратимым неврологическим повреждениям у 5 других (Kaur R. et al., 2016; Moore N., 2016). Сообщается, что BIA-102474 показал 50-100-кратную селективность в отношении FAAH

по сравнению с другими сериновыми гидролазами, а побочные эффекты возникли только на 5-ом и 6-ом дне приема 50 мг. Однократное введение 100 мг не показало никаких побочных эффектов, что убедительно свидетельствует о том, что токсичность возникла в результате накопления препарата. Отсутствие выраженного анальгетического эффекта в клинических испытаниях ингибиторов FAAH является веским аргументом против использования механизма ингибирования FAAH в разработке лекарственных средств (Huggins J.P. et al., 2012; Li G.L. et al., 2012; Pawsey S. et al., 2016).

В свете этих испытаний и проблем, связанных с конкретными соединениями, а также большого количества доклинических данных, подтверждающих эффективность соединений, направленных на ингибирование FAAH, амидгидролаза жирных кислот по-прежнему остается многообещающей мишенью для разработки новых анальгетиков.

Несмотря на то, что эндоканнабиноид 2-арахидонилглицерин (2-АГ) был обнаружен на несколько лет позже, чем АЕА, в настоящее время он считается основным эндоканнабиноидным лигандом в ЦНС (Stella N., et al., 1997), ответственным за большинство синаптических свойств активированных CB1-рецепторов (Katona I. and Freund T., 2012). Моноациглицерин липаза (MAGL) была идентифицирована как главный фермент, ответственный за прекращение передачи сигналов 2-АГ (Dinh T.P. et al., 2002; Dinh T.P et al., 2004), и способствует метаболизму 2-АГ *in vivo* (Blankman J.L. et al., 2007; Marrs W.R. et al., 2010). Приблизительно 85% гидролитической активности мозга связаны с MAGL. Первоначально попытки разработать селективные ингибиторы MAGL были безуспешными из-за нецелевых взаимодействий с другими сериновыми гидролазами, включая FAAH (King A.R. et al., 2007; Vandevoorde S. et al., 2007). Местные инъекции О-бифенилкарбамата URB602, ингибитора MAGL, снижали его активность, выборочно избирательно повышали уровни 2-АГ и не оказывали влияния на уровень

АЕА, вызывали антиноцицепцию, но были недостаточно эффективными для системного применения (Hohmann A.G. et al., 2005). Однако в 2009 году было разработано соединение с 300-кратной селективностью в отношении MAGL по сравнению с FAAH (Long J.S. et al., 2009). JZL184, вводимый системно, вызывает 8-кратное повышение 2-AG мозга без заметного повышения уровней АЕА и увеличивает пороги острой термической и механической боли у мышей. Подобно ингибированию FAAH, существенная антиноцицепция была продемонстрирована на моделях периферической воспалительной боли на грызунах (Guindon J. et al., 2011; Woodhams S.G. et al., 2012; Ghosh S. et al., 2013), висцеральной и желудочно-кишечной боли (Busquets-Garcia A. et al., 2011; Kinsey S.J. et al., 2011), нейропатической боли (Kinsey S.G. et al., 2009; Kinsey S.G. et al., 2010), невропатии, вызванной химиотерапией (Guindon J. et al., 2013). В моделях острой боли эффекты ингибирования MAGL, по-видимому, в значительной степени опосредованы CB1-рецепторами (Long J. S. et al., 2009), хотя в моделях воспалительной и нейропатической боли был идентифицирован и механизм действия, опосредованный CB2-рецепторами (Guindon J. et al., 2011; Guindon J., Hohmann A.J., 2008), что неудивительно, поскольку 2-AG является полным агонистом CB₂-рецепторов, в то время как АЕА – лишь слабым частичным агонистом (Gonsiorek W. et al., 2000). Однако появились результаты, ставящие под сомнение эффективность разработки специфических ингибиторов MAGL. Полное ингибирование MAGL с помощью JZL184 вызывает многие каннабиноидоподобные формы поведения (Long J.S. et al., 2009). Кроме того, в недавних исследованиях выяснилось, что устойчивое глобальное повышение 2-AG с помощью генетического удаления MAGL или постоянной блокады активности MAGL ингибиторами приводит к развитию функционального антагонизма эндоканнабиноидной системы (Chanda P.K. et al., 2010; Imperatore R. et al., 2015; Navia-Paldanius D., 2015). Хроническая блокада MAGL может также привести к физической зависимости (Schlosburg

J., 2009).

Однако эти проблемы считаются разрешимыми. Хроническое частичное ингибирование MAGL вызывает устойчивую анальгезию при отсутствии побочных эффектов каннабиноидов у мышей (Busquets-Garcia A. et al., 2011; Kinsey S.J. et al., 2011). Кроме того, было разработано новое поколение ингибиторов MAGL с лучшими терапевтическими профилями (Niphakis M.J. et al., 2013; Ignatowska-Jankowska B.M. et al., 2014;). Эти соединения обладают большей селективностью в отношении MAGL по сравнению с JZL184, оказывая антиноцицептивное действие на мышечных моделях острой и хронической боли со сниженными каннабимиметическими свойствами (Ignatowska-Jankowska B.M. et al., 2014; Ignatowska-Jankowska B.M. et al., 2015).

ФААН и MAGL участвуют в трансформации множества липидных сигнальных молекул, которые не связываются с каннабиноидными рецепторами, и, следовательно, ингибиторы ФААН и MAGL не являются селективными для эндоканнабиноидной системы. Более того, эндоканнабиноиды также подвергаются окислительному метаболизму с помощью различных ферментов, таких как циклооксигеназы (Guindon J., Hohmann A.G., 2009; Starowicz K., Di Marzo V., 2013). Эти наблюдения повышают вероятность того, что вещества, обладающие активностью в отношении нескольких ферментов, могут иметь лучшую анальгетическую эффективность, чем действующие избирательно на один фермент. Таким образом, полное устранение активности катаболических ферментов эндоканнабиноидной системы может оказаться менее эффективной терапевтической стратегией для облегчения боли, о чем свидетельствует недавняя клиническая неудача ингибитора ФААН при остеоартрите и выявление функционального антагонизма после хронического отсутствия активности MAGL.

Наряду с JZL184, Лонг с коллегами (2009) разработали аналог соединения с двойными ингибирующими свойствами на MAGL и FAAH (Long J.Z. et al., 2009). Системное введение JZL195 дает более выраженные каннабимиметические эффекты, чем полное ингибирование только MAGL или FAAH (Long J.Z. et al., 2009), но, в отличие от синтетических каннабиноидных агонистов, эффективная доза для антиноцицепции значительно ниже, чем доза, вызывающая нежелательные побочные эффекты, что указывает на потенциальную возможность терапевтического применения (Adamson Barnes N.S. et al., 2016). Аналогичным образом, в недавнем исследовании использовалось полное ингибирование FAAH с частичным ингибированием MAGL посредством совместного введения PF-3845 и JZL184 (Ghosh S. et al., 2015), вызывающее синергетическое увеличение антиноцицептивной активности на моделях нейропатической и воспалительной боли, при отсутствии побочных эффектов каннабимиметиков и при очевидном отсутствии толерантности и зависимости после хронического приема. В соответствии с этими данными, новый двойной ингибитор FAAH/MAGL с заметно большей эффективностью в отношении FAAH, чем MAGL (Niphakis M.J. et al., 2013), вызывает антиноцицепцию в моделях нейропатической и воспалительной боли *in vivo* (Wilkerson J.L. et al., 2016). Интересно, что это соединение можно использовать в сочетании с морфином для получения синергетического обезболивания и, по-видимому, для уменьшения толерантности к опиоидной анальгезии. Аналогичный эффект был также отмечен при использовании ингибирования MAGL низкими дозами с помощью MJN110 в сочетании с морфином на модели нейропатической боли на грызунах (Wilkerson J.L. et al., 2016), что позволяет предположить, что это перспективное направление для будущих исследований.

Эндоканнабиноидная система является основной эндогенной системой контроля боли, работающей параллельно с опиоидной системой и играющей

решающую роль в развитии и разрешении болевых состояний, а также в аффективных и когнитивных аспектах боли. Первоначальные надежды на усиление передачи сигналов ЭС с помощью специфических ингибиторов ферментов не оправдались из-за недавних клинических неудач. Однако более глубокое понимание роли ЭС в неопиоидных и опиоидозависимых формах подавления и обострения эндогенной боли в ответ на стресс, а также дисфункции лимбической схемы переднего мозга при болевых состояниях у людей способствует развитию будущих анальгетических стратегий.

Многофункциональные соединения, воздействующие на эндоканнабиноидную систему в сочетании с ингибированием ЦОГ-2, антагонизмом TRPV1 и в сочетании с опиоидами или НПВС, имеют большой потенциал для создания превосходного терапевтического профиля, который использует терапевтический потенциал эндоканнабиноидной сигнальной системы при минимизации нежелательных побочных эффектов каннабимиметиков (Woodhams S.G. et al, 2017).

1.3. Фармакологические свойства монотерпенов

Эфирные масла (ЭМ) - это летучие вторичные метаболиты растений, которые придают растениям характерный запах и вкус. ЭМ представляют собой сложные смеси, состоящие из терпенов и фенилпропаноидов. Монотерпены, относящиеся к классу терпенов, являются основными компонентами эфирных масел и определяют их фармакологическую активность.

Монотерпены – это большая группа органических соединений естественного происхождения, базовая структура которых состоит из двух связанных изопреновых фрагментов. Производные монотерпенов, содержащие гетероатомы (обычно атомы кислорода), известны как монотерпеноиды. Малый молекулярный размер монотерпенов и большинства монотерпеноидов – это важный критерий, позволяющий им

легко проникать через ГЭБ. Монотерпеноиды часто ответственны за нейротропную активность, проявляемую эфирными маслами. Доступность многих видов монотерпенов (обычно в оптически активной форме) и широкие возможности применения делают их привлекательными исходными соединениями для разработки новых лекарств.

Фармакологически активные производные *para*-ментана представлены углеводородами, спиртами, эфирными и карбонильными соединениями. Кроме того, важными производными этого ряда являются фенолы – производные пара-цимола (1-метил-4-изопропилбензола), которые образуются в растениях путём дегидрирования-дегидратации. Обширная группа монотерпеноидов представляет фармакологический интерес для изучения и разработки с последующим применением в качестве лекарственных средств.

Анальгетическая (антиноцицептивная) и противовоспалительная активность

Соединения с *p*-ментановым остовом являются наиболее изобильными природными моноциклическими монотерпеноидами. D-лимонен (R-(+)-изомер) – это монотерпен, преобладающий в эфирных маслах различных растений, таких как *Lippia alba* (липпия белая), *Artemisia dracunculus* L. (эстрагон) и других ароматических растений, являющийся типичным представителем этого ряда монотерпеноидов (Vale T.G. et al, 2002; Chauhana R.S. et al., 2010). Исследования эфирных масел, содержащих (+)-лимонен как один из основных компонентов, или чистого (+)-лимонена продемонстрировали его противовоспалительную и анальгетическую активность (Golshani S. et al., 2004; Amorim J.L. et al., 2016). Amaral с соавторами (2007) установили, что (+)-лимонен в дозах 25 и 50 мг/кг при внутрибрюшинном введении значительно сокращает количество корчей. Вызванных внутрибрюшинным введением уксусной кислоты. В недавнем исследовании Piccinelli с соавт. (2017) продемонстрировали способность

лимонена снижать продукцию интерлейкинов IL-1 β и IL-10. Kaimoto с соавт. (2016) при исследовании влияния лимонена на каналы транзиторного рецепторного потенциала (TRP) в моделях *in vivo* и *in vitro* установили, что лимонен оказывает антиноцицептивный эффект, но предположительно имеет бимодальный механизм восприятия боли, опосредованное через TRPA1 каналы, когда при местном применении лимонен может вызывать болевые ощущения, а при системном оказывать обезболивающее действие.

Анальгетический механизм действия (+)-лимонена, возможно, включает подавление синтеза и/или высвобождения медиаторов воспаления, которые провоцируют болевую реакцию в нервных окончаниях, подобно индометацину и другим НПВС, что указывает на периферическое анальгетическое действие. Его антиноцицептивное действие, вероятно, не связано со стимуляцией классических опиоидных рецепторов (Amaral. J.F. et al., 2007). Кроме того, было показано, что лимонен обладает выраженной противовоспалительной активностью как для профилактики, так и для лечения воспалительных заболеваний дыхательной системы (Santana H.S.R. et al., 2020).

(+)- α -Пинен и (-)-фенхон являются преобладающими компонентами *Foeniculum vulgare* (фенхеля обыкновенного); для них было установлено антиноцицептивное действие *in vivo*, при этом они не оказывают седативный эффект на ЦНС животных (Him A. et al., 2008). (-)- β -Пинен обладает супраспинальной обезболивающей активностью у крыс и устраняет антиноцицептивное действие морфина в той же степени, что и налоксон, предположительно действуя в качестве частичного агониста опиоидных μ -рецепторов (Asanova Zh.K. et al., 2003). (+)- α -Пинен оказывает выраженный профилактический противовоспалительный эффект в модели индуцированного воспаления в хондроцитах человека (Rufino A.T. et al., 2014). Было установлено, что α -пинен проявляет противовоспалительную активность за счет подавления митоген-активированных протеинкиназ

(МАРК) в перитонеальных макрофагах мышей (Kim D.S. et al., 2015). Местное использование эфирного масла ладана, основным компонентом которого является α -пинен оказывает значительный противовоспалительный эффект посредством ингибирования воспалительных инфильтратов, вызванных введением флогогена, и сверхэкспрессии циклооксигеназы COX-2 (Li X.J. et al., 2016).

p-Цимен – это монотерпен, являющийся биологическим прекурсором карвакрола и одним из главных компонентов эфирного масла растений рода *Protium* (протий), 80% которых произрастает в Амазонии (Siani A.C. et al., 1999). Было показано, что внутрибрюшинное введение *p*-Цимена в дозе 100 мг/кг, оказывает антиноцицептивное действие у мышей, которое не приводит к нарушению моторной координации, и этот эффект может модулировать как нейрогенную боль, так и боль, сопутствующую воспалению. Установлено, что *p*-цимен опосредует механизм антиноцицептивного действия через опиоидную систему (Santana M.F. et al., 2011). *p*-Цимен в дозах 50 и 100 мг/кг подавляет миграцию лейкоцитов, индуцированную каррагинаном. Предполагаемый механизм, может включать подавление синтеза воспалительных медиаторов, вовлеченных в процессы клеточной миграции (Bonjardim L.R. et al., 2012).

Мирцен, монотерпен, представленный в маслах многих лекарственных и ароматических растений, оказывает анальгетический эффект, действуя как на центральные, так и на периферические мишени, о чем свидетельствует увеличение времени реакции мышей на температурные стимулы в тесте на болевую чувствительность - «горячая пластина» и уменьшение количества укусных корчей. Анальгетический эффект, вызываемый мирценом (20 и 40 мг/кг) может быть устранен предварительным введением налоксона в обоих тестах, что указывает на участие опиоидов в механизме действия, что также указывает на вероятную вовлеченность в механизм обезболивающего действия мирцена пресинаптических α 2-адренорецепторов (Rao V.S.N. et al.,

1990). Было установлено, что мирцен опосредует свой анальгетический ответ через TRPV1-каналы (Jansen, C. et al., 2019).

Монотерпен α -фелландрен, найденный в *Curcuma zedoaria* (Christm). (куркума цедоария), *Eucaliptus dives* Schauer. (эвкалипт богатый), *Matricaria chamomilla* L. (ромашка аптечная) и *Zingiber officinale* Roscoe (имбирь аптечный) демонстрирует анальгетические и противовоспалительные свойства (Vitalini S. et al., 2009; Lima D.F, 2012). Пероральное введение α -фелландрена (3,325, 6,25 и 12,5 мг/кг) оказывает выраженный обезболивающий эффект на моделях химически и механически индуцированной ноцицепции у грызунов. Некоторые из возможных механизмов действия включают воздействие на опиоидную систему через K⁺АТФ-каналы, на глутаматергическую систему через L-аргинин/NO сигнальный путь, а также взаимодействие монотерпена с холинергическими (мускариновыми) и адренергическими (α_2) рецепторами (Lima D.F, 2012). На сегодняшний день установлено, что α -фелландрен оказывает противовоспалительное действие посредством двух различных механизмов: ингибировании миграции нейтрофилов и стабилизации тучных клеток (Siqueira H.D.S. et al., 2016).

Кислородсодержащие монотерпеноиды часто встречаются в природе и используются в качестве отдушек и вкусо-ароматических добавок. Ментол – это наиболее известный кислородсодержащий монотерпеноид, выделенный из эфирного масла растений рода *Mentha* (мята). Ментол также может быть экстрагирован или синтезирован из других эфирных масел, например, цитронеллы, эвкалипта.

Ментол – это циклический монотерпеновый спирт с тремя асимметричными атомами углерода. Существует четыре пары оптических изомеров, называемых (+)- и (-)-ментол, (+)- и (-)-неоментол, (+)- и (-)-изоментол и (+)- и (-)-неоизоментол (рис. 1.2). Среди оптических изомеров (-

)-ментол встречается в природе наиболее часто и обладает характерным ароматом (Eccles R., 1994).

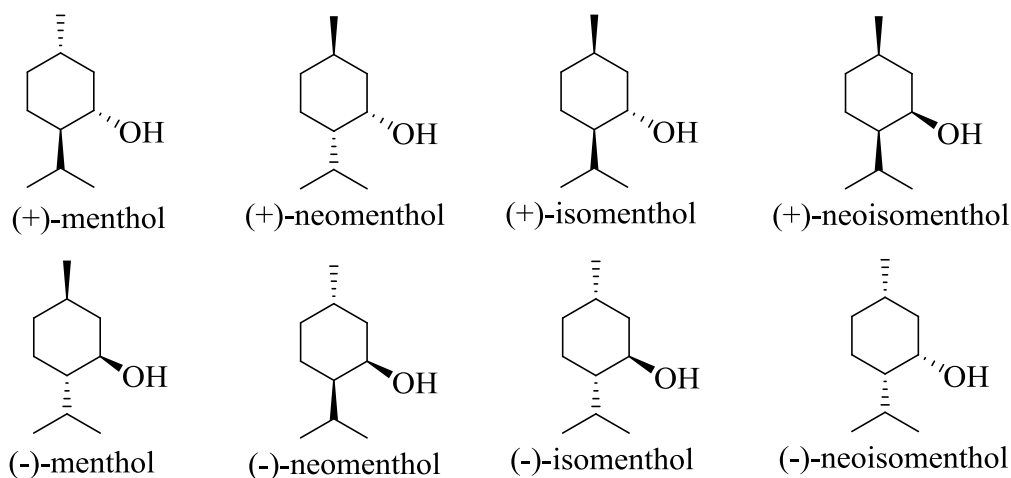


Рисунок 1.2. – Изомеры ментола

Ментол – это первичный активатор холодо- и ментол-чувствительных TRPM8-каналов (Zuker C.S., 2002). Он облегчает высвобождение глутамата из чувствительных нейронов, повышая внутриклеточный уровень Ca^{2+} через активацию TRPM8, приводя к модуляции периферической ноцицепции (Tsuzuki K. et al., 2004; Namer B. et al., 2005; Andersen H.H. et al., 2016). (-)-Ментол в дозе 10 мкМ на мышь при интрацеребровентрикулярном введении и в дозе 10 мг/кг при пероральном введении может вызвать анальгезию путем активации центральных κ -опиоидных рецепторов (Galeotti N. et al., 2002). Анальгезия, вызванная (-)-ментолом в тестах «горячая пластина» и «уксусные корчи» достигается без каких-либо видимых изменений нормального поведения животных. Ментол как местно-раздражающее вещество может также вызывать обезболивание, уменьшая чувствительность нервных окончаний в коже (Green B.G. et al., 2000).

Если сравнивать оптические изомеры ментола, то можно отметить влияние абсолютной конфигурации этого соединения на фармакологическую активность, а именно то, что (-)-ментол способен повышать болевой порог, тогда как (+)-ментол лишен какого-либо анальгетического действия (Galeotti

N. et al., 2002). В то же время, оба изомера проявляют эквивалентную анестетическую активность (Galeotti N. et al., 2000).

Ментол усиливает эффект других анальгетиков, в частности, продемонстрировано синергическое действие при использовании с метилсалицилатом (Green B.G., 1991).

(-)-Линалоол – это природный хиральный монотерпен (рис. 1.3), обычно встречающееся как основной летучий компонент эфирных масел различных ароматических растений, таких как *Citrus bergamia* Risso (бергамот), *Melissa officinalis* L. (мелисса), *Rosmarinus officinalis* L. (розмарин), *Cymbopogon citratus* DC (челнобородник лимонный), and *Mentha piperita* L. (мята перечная) (Lincka V.M. et al., 2010; Peana A.T. et al., 2004).

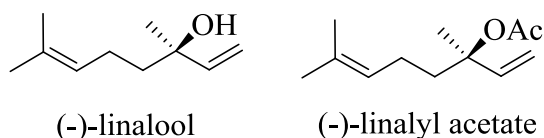


Рисунок 1.3. – Линалоол, линалил ацетат

Эфирные масла, содержащие (-)-линалоол, также используются как вкусо-ароматические добавки и отдушки в пищевой, парфюмерной и фармацевтической промышленности (Letizia C.S. et al., 2003). Показано, что (-)-линалоол обладает противовоспалительной и антиноцицептивной активностью на некоторых экспериментальных моделях (Peana A.T. et al., 2004; Lee S.C et al., 2018). (-)-Линалоол, вводимый в дозах 50 и 200 мг/кг интраперитонеально, проявляет выраженный антиноцицептивный эффект на моделях хронической боли у мышей (Batista P.A. et al., 2010). (-)-Линалоол уменьшает механическую гиперчувствительность на модели невропатической боли (частичная перевязка седалищного нерва), а также гиперчувствительность к холоду и механическим раздражителям, вызванную на модели хронического воспаления (устойчивое воспаление, вызванное адьювантом Фрейнда) (Batista P.A. et al., 2010). Антиноцицептивный эффект

(-)-линалоола включает периферические и спинальные мишени и, вероятно, опосредован ионотропными глутамат-зависимыми механизмами через NMDA рецепторы (Batista P.A. et al., 2008). Более того, механизмы и антиноцицептивное действие (-)-линалоола может включать активацию M2-мускариновых, опиоидных или дофаминовых D2-рецепторов (Peana A.T. et al., 2004).

Линалил ацетат – это главный компонент многих эфирных масел (рис. 1.3), который отвечает за их противовоспалительный эффект (Peana A.T. et al., 2002). Линалил ацетат также обладает анальгетическими свойствами и оказывает седативный эффект на ЦНС (Barocelli E. et al., 2004).

α -Терпинеол – это летучий монотерпеновый спирт (рис. 1.4), основной компонент эфирных масел различных растений, таких как *Ravensara aromatica* (равенсара ароматическая, сем. Лавровые), *Melaleuca quinquenervia* (мелалеука пятижилковая, сем. Миртовые), *Myrtus communis* (мирт обыкновенный), *Laurus nobilis* (лавр благородный), *Croton sonderianus* (сем. Молочаевые/Эуфорбиевые) и *Eucalyptus globulus* (эвкалипт шаровидный), которые широко используются в народной медицине и ароматерапии (de Oliveira M.G. et al., 2012b). α -Терпинеол (100 мг/кг внутрибрюшинно) обладает центральным анальгетическим эффектом, о чем свидетельствует долгий латентный период болевой реакции у мышей в тесте «горячая пластина» (Quintans-Junior L.J. et al., 2011). α -Терпинеол (25, 50 и 100 мг/кг) обладает противовоспалительным и антиноцицептивным действием. Эти эффекты, по-видимому, ассоциированы со способностью α -терпинеола ингибировать каскад цитокинов, активируемый каррагинаном и/или уменьшать продукцию медиаторов воспаления, и высвобождение NO (de Oliveira M.G. et al., 2012).

1,8-Цинеол, также известный как эвкалиптол или кайюпуютол (кайюпуютол), – это оксид терпена (рис. 1.4) и главный компонент большинства масел *Eucalyptus globulus* (эвкалипт шаровидный) (~75%), *Rosmarinus*

officinalis (розмарин лекарственный) (~40%), *Psidium* (гуавы, сем. Миртовые) (40-60%) и многих других эфирных масел. Он часто используется в фармацевтической индустрии в лекарственных формах благодаря его способности улучшать проникновение лекарственных веществ через кожу, противоотечным и противокашлевым свойствам, а также в ароматерапии (Santos F.A. et al., 2000). 1,8-Цинеол обладает умеренно выраженными антиэкссудативными и цитотоксическими свойствами и выраженной анальгетической и противоопухолевой активностью (Asanova Zh.K. et al., 2003). 1,8-Цинеол (50, 100 и 200 мг/кг) оказывает противовоспалительный и антиноцицептивный эффекты, не зависящие от дозы. Антиноцицептивный эффект 1,8-цинеола почти эквивалентен эффекту морфина у крыс как на спинальном, так и на супраспинальном уровне, тогда как у мышей это действие проявлялось только на супраспинальном уровне и было менее выраженным (Liari C. et al., 2007). 1,8-Цинеол подавляет не только каррагинановый отек и повышенную проницаемость капилляров, но также и образование гранулемы. Механизм, посредством которого 1,8-цинеол оказывает противовоспалительное действие, неясен (Santos F.A. et al., 2000).

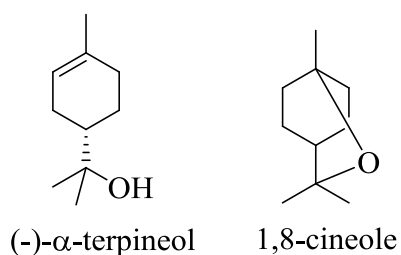


Рисунок 1.4. – Терпинеол, Цинеол

Цитронеллол, монотерпеновый спирт, - это природный монотерпеновый компонент (рис. 1.5), преобладающий в эфирных маслах разных ароматических растений, таких как *Cymbopogon citratus* (челнобородник лимонный), *C. winterianus* и *Lippia alba* (сем. Вербеновые) (Quintans-Junior L.J. et al., 2008). Цитронеллол, вводимый в дозах 25, 50 и 100 мг/кг внутривентрально эффективен на многих моделях боли, и его действие,

вероятно, осуществляется через ингибирование синтеза периферических медиаторов воспаления (таких как ФНО- α , NO, простагландины), а также через центральные тормозные механизмы (центральные μ -опиоидные рецепторы), которые могут быть связаны с выраженным антиоксидантным эффектом, наблюдавшимся *in vitro* (Melo M.S. et al., 2010; Brito R.G. et al., 2012; Santos P.L. et al., 2019).

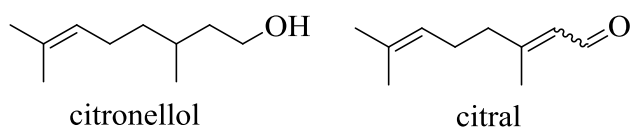


Рисунок 1.5. – Цитронеллол, цитраль

Цитраль – это монотерпен (рис. 1.5), содержащийся в травах, растениях и плодах Цитрусовых. Это смесь изомерных ациклических альдегидов гераниала (транс-цитрал, цитрал А) и нерала (цис-цитрал, цитрал В). Цитраль является основным компонентом эфирного масла растения *Cymbopogon citratus*, широко известного как лемонграсс (Katsukawa M. et al., 2010). Благодаря интенсивному цитрусовому аромату цитрал широко используется в качестве пищевых добавках, косметике и детергентах (Nhu-trang T.T. et al., 2006). Цитраль (50, 100 и 200 мг/кг) обладает периферическим антиноцицептивным и противовоспалительным действием. Точный механизм противовоспалительной активности на данный момент неизвестен и изучается, но, возможно, он связан с арахидоновым каскадом и/или модуляцией продукции провоспалительных молекул (Quantans-Junior L.J. et al., 2011a). Антиноцицептивное действие, индуцированное цитралем, может быть обусловлено ингибированием TRPA1-каналов, но, может быть, вовлечены и другие механизмы (Ortiz M.I. et al., 2010a). Использование напроксена в сочетании с цитралем приводит к уменьшению побочных эффектов напроксена со стороны ЖКТ и почек (Ortiz M.I. et al., 2010b). Цитраль проявляет выраженную антиноцицептивную активность на

животных моделях артрита посредством модуляции спинальной ноцицептивной передачи сигналов (Mota C.M.D. et al., 2020). Цитраль обладает выраженным антиноцицептивным действием, не оказывая влияния на двигательную активность, и при этом обладает гастропротекторными свойствами в отношении повреждений слизистой оболочки желудка, вызванными применением НПВС (Cavichioli F.J. et al., 2018).

(R)-(+)-Пулегон – это монотерпен, обнаруженный в эфирных маслах растений сем. Губоцветные. В природе пулегон существует как в (+), так и в (-)-форме. Правовращающий пулегон получают из масел *Mentha pulegium* (мята болотная), *M. longifolia* (мята длиннолистная) и других. Левовращающий пулегон – это основной компонент масла *Agastache formosanum* (многоколосника формозского) (Zhao D. et al, 2013; Kocovsky P. et al, 1986). (R)-(+)-Пулегон (31,3-125 мг/кг) дозозависимо подавляет обе фазы формалинового отека подобно морфину. Антиноцицептивный эффект вещества проявляется в увеличении времени латентной болевой реакции у мышей в тесте «горячая пластина» (de Sousa D.P. et al., 2011).

Противосудорожная активность. Антиконвульсантные препараты в первую очередь разрабатываются для лечения эпилепсии, неврологического состояния, которое затрагивает около 50 млн. людей по всему миру. Они сокращают частоту приступов, подавляя возбудимость нейронов через различные молекулярные мишени в синапсах, включая потенциал-зависимые ионные каналы, потенциал-зависимые натриевые каналы, ГАМК-А рецепторы и рецепторы глутамата (Maskey C., 2010).

ГАМК-ергическая система вовлечена в патогенез многих болезней ЦНС, например, эпилепсии или расстройств настроения. Одна из теорий, которые пытаются объяснить главные причины эпилепсии, предполагает, что эта патология может возникнуть в результате нарушения естественного баланса между концентрацией тормозных и возбуждающих медиаторов ЦНС (Kubacka M. et al., 2006). Уменьшение концентрации ГАМК и глутамат

декарбоксилазы играет роль в проявлении симптомов не только эпилепсии, но и других неврологических заболеваний, таких как шизофрения, хорea Хантингтона, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, старческая деменция, двигательные расстройства и т.д (Gajcsy K. et al., 2010). Показателем проявления противосудорожной активности исследуемым веществом является эффективность в одной или нескольких моделях судорожных приступов, включая модель максимального электрошока, пентилентетразоловые (PTZ) судороги, пилокарпиновую модель и модель пролонгированного пентилентетразолового kindlinga (de Almeida R.N. et al., 2011).

Системное введение ментола (300 мкМ) селективно активирует тоническое торможение, опосредованное высокоаффинными медленно десенсибилизирующимися рецепторами ГАМК-А в пирамидальных нейронах CA1 гиппокампа крыс, что приводит к ингибированию *in vitro* нейрональной возбудимости и гипервозбудимости сети гиппокампа *in vivo* (Zhang X.B. et al., 2008). Ментол (50 мкМ) действует как эффективный положительный аллостерический модулятор ГАМК-А рецепторов через те же сайты воздействия, что и внутривенный анестетик пропофол. Стимуляция тормозной нервной передачи ментолом и его аналогами может обеспечить важные нейроактивные свойства, такие как седативное действие и анестезия (Watt E.E. et al., 2008).

В ходе изучения влияния абсолютной конфигурации было установлено, что из пяти проанализированных изомеров только (+)-ментол (100 мкМ) проявляет активность, стимулируя связывание аллостерического лиганда ГАМК-А рецептора дозозависимым способом. (+)- и (-)-неоментолы были признаны неактивными, потому что они были способны увеличивать связывание только при очень высокой концентрации (1000 мкМ) (Corvalan N.A. et al., 2009). (+)-Изоментол обладает сильной положительной модуляцией рецептора ГАМК-А и подавляет ответ ГАМК в концентрации

менее 10 мМ, в то время как (+)-ментол (Solomon V.R et al., 2019). Для ментола и пропофола был обнаружен общий сайт связывания с рецепторами ГАМК-А из-за их специфического структурного сходства, которое заключается в смежности изопропильной группы к гидроксильной группе (Watt E.E. et al., 2008).

α -Пинен является основным компонентом эфирного масла листьев и цветов *Ducrosia anethifolia*. Введение эфирного масла данного растения, как и самого α -пинена снижало смертность и выраженность судорог, вызванных введением PTZ в модели *in vivo*. Противосудорожный эффект эфирного масла *D. anethifolia* и α -пинена может быть связан с их антиоксидантными свойствами и возможной активацией рецепторов ГАМК-А (Zamayad M. et al., 2019). Было установлено, что смесь изомеров α - и β -пинена обладает более выраженным противосудорожным эффектом в модели PTZ-индуцированных судорог *in vivo*, по сравнению с противосудорожным действием α -пинена (Felipe C.F.B. et al., 2019).

Терпинен-4-ол – это летучий монотерпеновый спирт и компонент эфирных масел некоторых растений, таких как *Alpinia zerumbet* (альпиния церумбет, сем. Имбирные), *Tanacetum cadmeum* (пижма, сем. Сложноцветные), *Melaleuca alternifolia* и других видов ароматических растений (Ozek G. et al, 2007). Предварительное введение мышам (-)-терпинен-4-ола в дозе 100, 200 и 300 мг/кг внутрибрюшинно значительно увеличивает латентное время конвульсий подобно диазепаму (4 мг/кг), стандартному антиконвульсантному препарату. Антиконвульсантная активность, предположительно, опосредована взаимодействием с ГАМК-рецепторами (de Sousa D.P. et al , 2009).

Рацемический α -терпинеол, изомер терпинен-4-ола, вводимый в дозах 100 и 200 мг/кг интраперитонеально эффективно увеличивает латентное время PTZ-индуцированных конвульсий и предотвращает тонические судороги, который в дозе 400 мг/кг достигает 100% эффекта (de Sousa D.P. et

al., 2007b). Но, α -терпинеол обладает меньшей активностью в отношении ГАМК по сравнению с (+) изоментом, что указывает на важность положения гидроксильной группы по отношению к алифатической цепи (Solomon V.R et al, 2019).

Изопулегол – это монотерпеновый спирт *p*-ментанового ряда, промежуточное соединение в синтезе (-)-ментола, представленный в эфирных маслах различных видов растений, таких как *Eucalyptus citriodora* Hook (эвкалипт лимонный) и *Zanthoxylum schinifolium* (зантоксилум, сем. Рутовые) (Silva M.I. et al., 2007). Изопулегол значительно пролонгирует латентный период PTZ-индуцированных судорог (в дозе больше 200 мг/кг) и предотвращает гибель мышей (в дозах 100 и 200 мг/кг). Таким образом, изопулегол проявляет антиконвульсантное и протективное действие при коразол-индуцированных судорогах. Такая активность, возможно, обусловлена положительной модуляцией ГАМК-А рецепторов и антиоксидантными свойствами (Silva M.I. et al., 2009; Manayı A. et al., 2016).

Тимол – это ароматический монотерпен, который встречается как компонент многих эфирных масел. Он широко используется в стоматологической практике и изготовлении анестетика галотана благодаря его антимикробным и антиоксидантным свойствам (Garcia D.A. et al., 2008). Тимол (0,1 мкМ) может усиливать действие ГАМК в концентрациях более низких. Этот эффект подавляется конкурентными и неконкурентными антагонистами ГАМК-А рецепторов, что указывает на непосредственное взаимодействие вещества с этим рецептором (Garcia D.A. et al., 2006). Тимол действует как положительный аллостерический модулятор ГАМК-рецепторов (Manayı A. et al., 2016).

Карвон – это монотерпеновый кетон (рис. 1.6), обнаруженный в качестве главного активного компонента во многих эфирных маслах, таких как масло *Mentha spicata* L. (мята колосистая), *Anethum graveolens* L. (укроп пахучий, сем. Зонтичные), *Carum carvi* L. (тмин обыкновенный, сем.

Зонтичные) и *Lippia alba* (вербена белая). Он встречается в природе в виде энантиомеров (+)- и (-)-карвона (Goncalves J.C. et al., 2010). Предварительное введение мышам (+)-карвона в дозе 200 мг/кг значительно увеличивает латентное время PTZ- и пикротоксин-индуцированных судорог в той же степени, что и введение диазепама. (-)-Карвон не оказывает эффекта на возникновение конвульсий (de Sousa D.P. et al., 2007a). Циано-карвон, синтетическое производное карвона, обладает антиконвульсантной активностью, возможно, обусловленной модуляцией функции холинергической системы и уменьшением окислительного стресса в нейронах (Costa D.A. et al., 2012). α,β -Эпокси-карвон в дозах 300 и 400 мг/кг защищает от химически PTZ-индуцированных конвульсий на 75% и 87,5%, соответственно. α,β -Эпокси-карвон обладает антиконвульсантной активностью, возможно, обусловленной модуляцией ГАМК-ергической системы и уменьшением нейрональной возбудимости, главным образом, через потенциал-зависимые натриевые каналы (de Almeida R.N. et al., 2008).

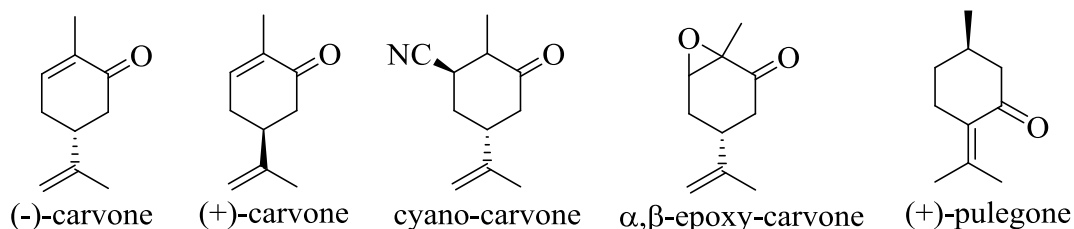


Рисунок 1.6. – Карвон, пулегон

(R)-(+)-Пулегон (300 мг/кг) значительно увеличивает латентное время PTZ-индуцированных судорог в моделях *in vivo* и оказывает эффект, сопоставимый с диазепамом, стандартным противосудорожным средством (de Sousa D.P. et al., 2011).

(+)-Борнеол – это бициклический монотерпен (рис. 1.7), обнаруженный в некоторых видах *Artemisia* (полыни) и сем. *Dipterocarpaceae*, а также представленный в эфирных маслах многочисленных лекарственных

растений, включая *Valeriana officinalis* (валериана лекарственная), *Matricaria chamomilla* (ромашка аптечная), *Lavandula officinalis* (лаванда лекарственная) (Forster H.B. et al., 1980; Slamenova D. et al., 2009). Экстракты валерианы подавляют обратный захват ГАМК, связываются с бензодиазепиновыми сайтами ГАМК-А рецепторов и облегчают транспорт ГАМК (Ortiz J.G. et al., 1999). Кроме того, эфирное масло лаванды умеренно потенцирует эффект ГАМК на ГАМК-А рецепторы (Aoshima H. et al., 1999). Борнеол действует как эффективный положительный аллостерический модулятор ГАМК-А и глициновых рецепторов (Hall A.C. et al., 2004). (+)- и (-)-борнеол значительно усиливают действие ГАМК на рекомбинантные $\alpha_1\beta_2\gamma_{2L}$ ГАМК-А рецепторы, а также оказывают умеренное прямое действие на эти рецепторы (Granger R.E. et al, 2005). Сравнение активности энантиомеров (+)- и (-)-борнеола указывает на то, что наличие и ориентация гидроксильной группы могут быть важны для воздействия на $\alpha_1\beta_2\gamma_{2L}$ ГАМК-А рецепторы. (+)-Борнеол наиболее выражено потенцирует прямое действие соединений на $\alpha_1\beta_2\gamma_{2L}$ ГАМК-А рецепторы, обеспечивая до 89% максимального ответа на ГАМК. (-)-Борнеол вызывает чуть менее выраженный ответ до 84%, а изоборнеол – до 51% максимального ответа на ГАМК (Granger R.E. et al, 2005). Модулирующий эффект (+)-борнеола при низкой концентрации ГАМК эквивалентен эффекту анестетика этомидата и значительно превосходит эффект диазепама. Эффективность каждого энантиомера заметно изменяется в зависимости от концентрации ГАМК (Granger R.E. et al, 2005).

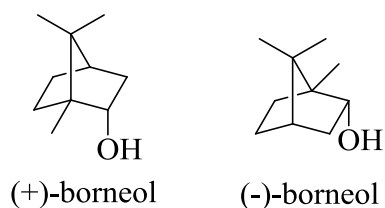


Рисунок 1.7. – Борнеол

Цитронеллол (100, 200 и 400 мг/кг) дозозависимо отодвигает наступление судорог, вызванных PTZ у мышей, с максимальным эффектом в дозе 400 мг/кг (de Sousa D.P. et al., 2006). Цитронеллол обладает выраженной антиконвульсантной активностью, возможно, обусловленной уменьшением возбудимости нейронов, главным образом, через потенциал-зависимые натриевые каналы; ГАМК-ергическая система также может принимать участие (Melo M.S. et al., 2011). Противосудорожная активность цитронеллола может быть связана с блокадой потенциалзависимых Na^+ -каналов, что приводит к снижению нервной возбудимости (Manayi A. et al., 2016).

Сафраналь – главный компонент эфирного масла *Crócus* (шафрана), образуется из гликозида пикрокроцина путем гидролиза в ходе высушивания и заготовки шафрана (Tarantilis P.A. et al, 1995; Fernandez-Sanches L. et al., 2012). Сафраналь оказывает защитное действие как на клоническую, так и на тоническую фазу PTZ-индуцированных судорог, а ГАМК-А-бензодиазепиновый рецепторный комплекс может играть важную роль в этом эффекте, однако необходимы дальнейшие исследования с использованием селективных антагонистов (Hosseinzadeh H. et al., 2007).

Нейропротекторная активность. Любые патофизиологические механизмы запускаются различными этиологическими факторами или биологическими событиями, и большое количество неврологических заболеваний при остром или хроническом стрессе являются нейродегенеративными. Несмотря на то, что этиологические агенты не однородны, они могут приводить к нарушению клеточных функций и клеточной смерти. Целью нейропротекторной терапии является блокирование этих патогенетических процессов. Нейропротекторы – это агенты, предотвращающие повреждение нейронов мозга, вызванное патогенетическим фактором. Эффект этих агентов предполагает устранение или сокращение патофизиологических и биохимических нарушений в

нервной клетке. Некоторые монотерпеноиды известны благодаря их нейропротекторной активности. Поскольку неврологические заболевания, такие как инсульт, болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона имеют тенденцию возникать все чаще, роль нейропротекторных агентов становится все более важной (Cang H.-J. et al., 2007).

Было обнаружено, что α - и γ -терпинен (рис. 1.8) обладают выраженной нейропротекторной активностью на модели ишемии, вызванной человеческой нейробластомой SH-SY5Y (Melo M.S. et al., 2011).

α -Пинен обладает нейропротекторным действием и способен ослаблять сенсомоторные дисфункции, а также восстанавливать функции гемато-энцефалического барьера у крыс, перенесших очаговый ишемический инсульт. В механизме нейропротекторного действия α -пинена задействованы его противовоспалительные и антиапоптотические свойства (Khoshnazar M. et al, 2020). Эффекты β -пинена оценивали на чувствительных к оксидативному стрессу клетках феохромоцитомы мышей. β -Пинен препятствовал образованию свободных радикалов, увеличил продукцию каталазы, супероксиддисмутазы и др. ферментов, а также способствовал снижению апоптоза (Porres-Martinez M. et al., 2016).

Борнеол (рис. 1.8) проявляет нейропротекторный эффект на модели депривации/реперфузии кислородом и глюкозой OGD/R у крыс (oxygen glucose deprivation/reperfusion), который достигается через многофункциональные цитопротекторные пути. Механизм этого предотвращения OGD/R может включать подавление образования активных форм кислорода и функционирования синтазы оксида азота, сокращение высвобождения провоспалительных факторов, подавление деградации I κ B α , блокирование ядерной транслокации NF- κ B p65 и каспазного пути апоптоза (Liu R. et al., 2011).

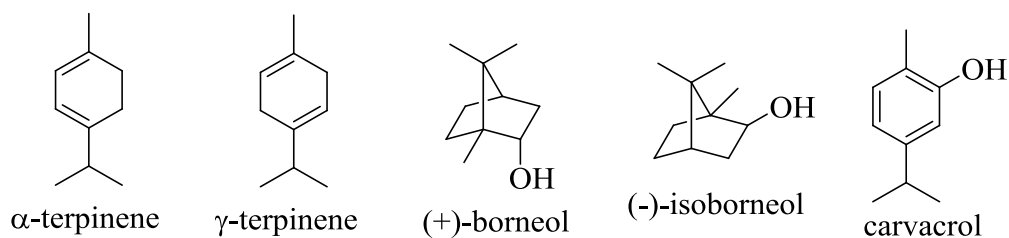


Рисунок 1.8. – Монотереноиды

Борнеол может увеличивать концентрацию ферулата натрия в плазме и частично в головном мозге (Lin Z.Z. et al., 2008). Ферулат натрия используется в терапии синдромов, связанных со свободными радикалами, таких как нейродегенеративные заболевания (Yan J.J. et al., 2001). К сожалению, ферулат натрия быстро метаболизируется при первом прохождении через печень, что ограничивает его биодоступность (Zhao Z. et al., 2004). Ферулат натрия (100-400 мг/кг) в комбинации с борнеолом (10 мг/кг) оказывает значительно более выраженное нейропротекторное действие в мозге мышей при ишемии/реперфузии, что может быть частично обусловлено поддержанием целостности ГЭБ и восстановлением окислительно-восстановительного равновесия (Chen X.H. et al., 2010). Введение борнеола облегчает травму головного мозга на ранней стадии липополисахарид-индуцированного сепсиса за счет ингибирования нейровоспаления и угнетения сигнальных путей MAPK и NF- κ B в головном мозге (Wang, L. et al., 2019).

Цитопротекция, обеспечиваемая рацемическим изоборнеолом обусловлена по крайней мере частично подавлением окислительного стресса, возникающего в результате митохондриального пути апоптоза (Tian L.L. et al., 2007).

Карвакрол (рис. 1.8), монотерпеновый фенол, встречается в различных растениях семейства Губоцветные. Он в изобилии находится в эфирных маслах орегано и тимьяна (Ultee A. et al., 1999). Карвакрол в дозе 25 и 50 мг/кг обеспечивает нейропротекцию в объеме инфаркта и при апоптозе

нейронов на модели фокальной окклюзии средней мозговой артерии у мышей (Yu H. et al., 2012). Карвакрол снижает фильтрацию лейкоцитов в ЦНС и модулирует выработку провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (Mahmoodi M. et al., 2019).

Пеонифлорин, монотерпеноидный гликозид и характерный главный биоактивный компонент *P. alba* Radix, проявляет множество фармакологических эффектов (Liu D.Z. et al., 2005). Введение пеонифлорина в дозе 2,5 и 5 мг/кг подкожно оказывает мощное нейропротекторное действие на дофаминергические нейроны на модели МФТП-индуцированной болезни Паркинсона у мышей (Liu H.Q. et al, 2006). Нейропротекторный эффект пеонифлорина может быть обусловлен модуляцией воспаления путем активации аденозиновых A1 рецепторов. Введение пеонифлорина (10 и 50 мкМ) защищает также от NMDA-индуцированной клеточной смерти в культуре клеток PC12. (Mao Q.-Q. et al, 2011; Mukherjee P.K. et al, 2007; Kong Y et al, 2020).

Таким образом, монотерпеноиды представляют большой интерес в качестве основы для разработки новых лекарственных средств. Имеющиеся опубликованные данные позволяют выделить монотерпеноиды, химические структуры которых имеют потенциал для модификации и разработки новых ЦНС-активных лекарственных средств: противопаркинсонического и анальгетического действия. Кислородсодержащие монотерпены из ряда пинена являются коммерчески доступными соединениями, обладающие высокой оптической чистотой и химической лабильностью. Вербенон – один из терпеноидов пинена, является широкодоступным монотерпеноидом, используемый для химической модификации с целью разработки новых биологическиактивных веществ (Ardashov O.V. et al., 2007; П'ина I.V. et al., 2007).

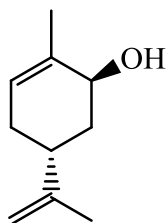
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

2.1. Экспериментальные животные

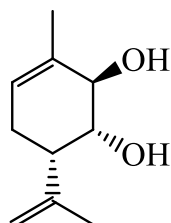
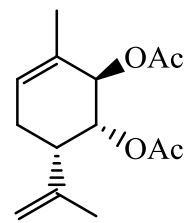
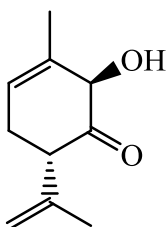
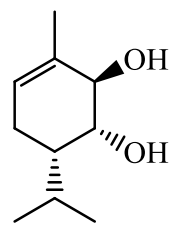
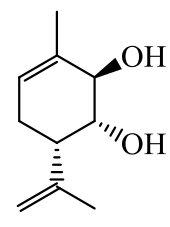
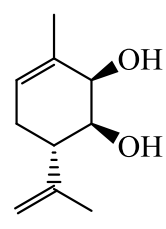
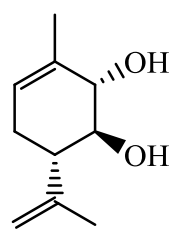
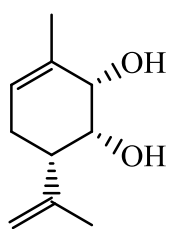
Эксперименты *in vivo* были проведены на самцах мышей инбредной линии C57Bl/6 массой тела 20-25г. (552шт), аутбредных (нелинейных) лабораторных мышах(CD-1) обоих полов весом 20-25г. (1610 шт.), белых крысах линии Вистар обоих полов массой тела 200-250г. (110 шт.). Животные получены из вивария ФИЦ Института цитологии и генетики СО РАН, где содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и гранулированному корму. После карантина животных рандомизировали по весу и разделяли на группы по 6–8 особей для мышей и по 6 особей для крыс. Работы с животными проводились в строгом соответствии с Приказом МЗ РФ № 199н от 1 апреля 2016 г. "Правила надлежащей лабораторной практики" и положениями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента (Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes) и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

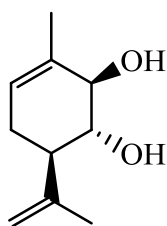
2.2. Исследуемые соединения

Представленные для исследования соединения были синтезированы в Лаборатории лесохимии и химии природных биологически активных соединений Института органической химии СО РАН (зав. лаб. – д. х. н. Салахутдинов Н. Ф.) Синтез соединений был осуществлен исходя из распространенного монотерпеноида (–)-вербенола в соответствии с ранее разработанными методиками (Ardashov et al., 2007; Il'ina et al., 2007; Suslov E.V. et al, 2018)

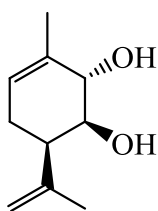
**1**

(4S,6R)-карвеол (99:1)

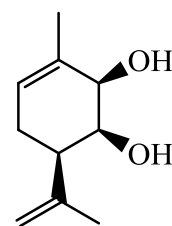
**2**(4S,5R,6R)-*para*-мента-1,8-
диен-5,6-диол (85:15)
((1R,2R,6S)-3-метил-6-(проп-
1-ен-2-ил)циклогекс-3-ен-
1,2-диол)**3**(4S,5R,6R)-*para*-мента-1,8-
диен-5,6-диацетат (85:15)
((1R,2R,6S)-3-метил-6-
(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-
3-ен-1,2-диил диацетат)**4**(4S,6R)-*para*-мента-1,8-
диен-6-ол-5-он (99:1)
((2R,6S)-2-гидрокси-3-
метил-6-(проп-1-ен-2-
ил)циклогекс-3-енон)**5**(4S, 5R, 6R)-*para*-мент-1-ен-
5,6-диол (85:15)
((1R,2R,6S)-6-изопропил-3-
метилциклогекс-3-ен-1,2-
диол)**6**(4S,5R,6R)-*para*-мента-1,8-
диен-5,6-диол (97:3)
((1R,2R,6S)-3-метил-6-
(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-
3-ен-1,2-диол)**7**(4S,5S,6R)-*para*-мента-1,8-
диен-5,6-диол (97:3)
((1S,2R,6S)- 3-метил-6-
(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-
3-ен-1,2-диол)**8**(4S,5S,6S)-*para*-мента-1,8-
диен-5,6-диол (100)
((1S,2S,6S)- 3-метил-6-(проп-
1-ен-2-ил)циклогекс-3-ен-
1,2-диол)**9**(4S,6R,6S)- *para*-мента-1,8-
диен-5,6-диол (99:1)
((1R,2S,6S)- 3-метил-6-
(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-
3-ен-1,2-диол)

**10**

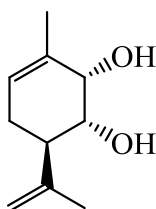
(4R,5R,6R)-*para*-мента-1,8-
диен-5,6-диол (98,5:1,5)
((1R,2R,6R)- 3-метил-6-
(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-
3-ен-1,2-диол)

**11**

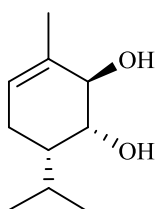
(4R,5S,6S)-*para*-мента-1,8-
диен-5,6-диол (99:1)
((1S,2S,6R)- 3-метил-6-(проп-
1-ен-2-ил)циклогекс-3-ен-
1,2-диол)

**12**

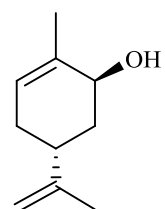
(4R,5S,6R)-*para*-мента-1,8-
диен-5,6-диол (99:1)
((1S,2R,6R)- 3-метил-6-
(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-
3-ен-1,2-диол)

**13**

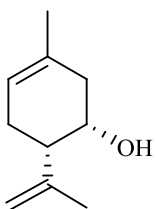
(4R,5R,6S,)- *para*-мента-1,8-
диен-5,6-диол (99:1)
((1R,2S,6R)- 3-метил-6-
(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-
3-ен-1,2-диол)

**14**

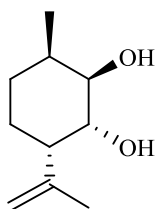
(4S, 5R, 6R)-*para*-мент-1-ен-
5,6-диол
((1R,2R,6S)-6-изопропил-3-
метилциклогекс-3-ен-1,2-
диол)

**15**

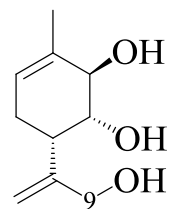
(4S,6R,)-карвеол

**16**

(4S,5S)-*para*-мента-1,8-
диен-5-ол
((1S,6S)-3-метил-6-(проп-1-
ен-2-ил)циклогекс-3-енол)

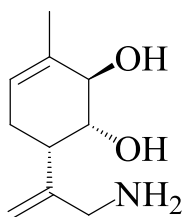
**17**

(1R,2R,3R,6S)-3-метил-6-
(проп-1-ен-2-
ил)циклогексан-1,2-диол

**18**

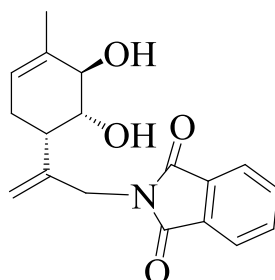
(4S,5R,6R)-*para*-мента-1,8-
диен-5,6,10-триол
((1R,2R,6S)-6-(3-
гидроксипроп-1-ен-2-ил)-3-

метилциклогекс-3-ен-1,2-
диол)



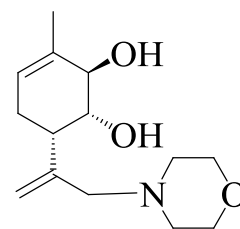
19

(1R,2R,6S)-6-(3-аминопроп-
1-ен-2-ил)-3-
метилциклогекс-3-ен-1,2-
диол



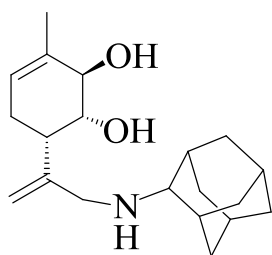
20

2-((1S,5R,6R)-5,6-
дигидрокси-4-
метилциклогекс-3-
енил)аллил)изоиндолин-1,3-
дион



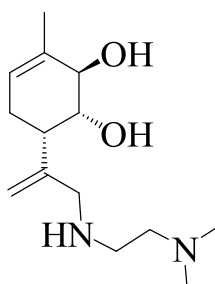
21

(1R,2R,6S)-3-метил-6-(3-
морфолинопроп-1-ен-2-
ил)циклогекс-3-ен-1,2-диол



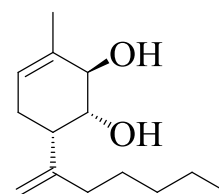
22

(1R,2R,6S)-6-{1-[(2-
адамантиламино)метил]вин
ил}-3-метилциклогекс-3-ен-
1,2-диол



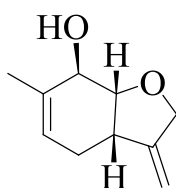
23

(1R,2R,6S)-6-(3-(2-
(диметиламино)этиламино)п
роп-1-ен-2-ил)-3-
метилциклогекс-3-ен-1,2-
диол

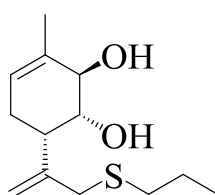


24

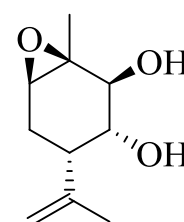
(1R,2R,6S)-6-(гепт-1-ен-2-
ил)-3-метилциклогекс-3-ен-
1,2-диол



25

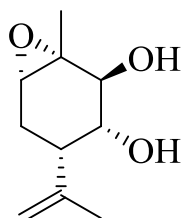


26



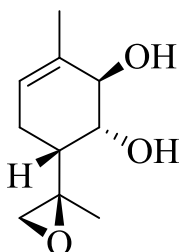
27

(3a*S*,7*R*,7a*R*)-6-метил-3-метилен-2,3,3a,4,7,7a-гексагидробензофуран-7-ол



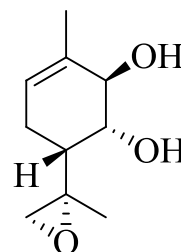
28

(1*R*,2*R*,6*S*)-3-метил-6-(3-(пропилтио)проп-1-ен-2-ил)циклогекс-3-ен-1,2-диол



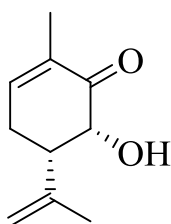
29

(1*S*,2*S*,3*R*,4*S*,6*R*)-1-метил-4-(1-метилэтенил)-7-оксабицикло[4.1.0]гептан-2,3-диол



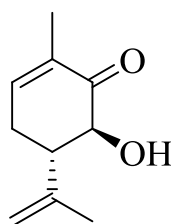
30

(1*R*,2*S*,3*R*,4*S*,6*S*)-1-метил-4-(1-метилэтенил)-7-оксабицикло[4.1.0]гептан-2,3-диол



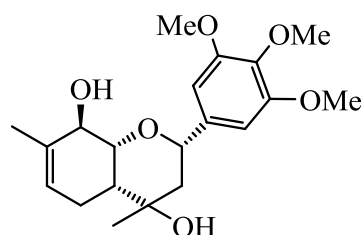
31

(1*R*,2*R*,6*R*)-3-метил-6-((*R*)-2-метилоксиран-2-ил)циклогекс-3-ен-1,2-диол



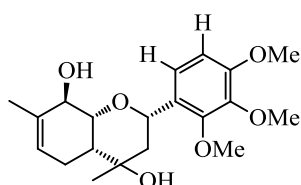
32

(1*R*,2*R*,6*R*)-3-метил-6-((*S*)-2-метилоксиран-2-ил)циклогекс-3-ен-1,2-диол



33

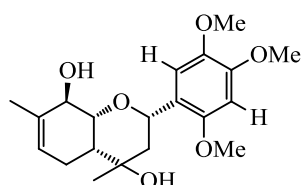
(4*S*,5*R*)-пара-мента-1,8-диен-5-ол-6-он ((5*S*,6*R*)-6-гидрокси-2-метил-5-(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-2-енон)



34

(2*S*,4*R*,4a*R*,8*R*,8a*R*)-4,7-

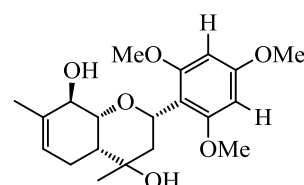
(4*S*,5*S*)-пара-мента-1,8-диен-5-ол-6-он ((5*S*,6*S*)-6-гидрокси-2-метил-5-(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-2-енон)



35

(2*S*,4*R*,4a*R*,8*R*,8a*R*)-4,7-

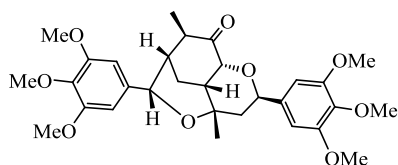
(2*S*,4*R*,4a*R*,8*R*,8a*R*)-4,7-диметил-2-(3,4,5-триметоксифенил)-3,4,4a,5,8,8a-гексагидро-2*H*-хромен-4,8-диол



36

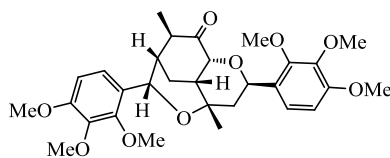
(2*S*,4*R*,4a*R*,8*R*,8a*R*)-4,7-

диметил-2-(2,3,4-
триметоксифенил)-
3,4,4а,5,8,8а-гексагидро-2H-
хромен-4,8-диол

**38**

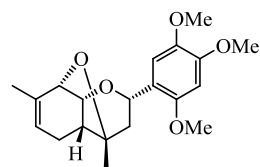
(2*R*,4*S*,4а*R*,6*S*,7*R*,8а*R*,9*S*)-
4,7-диметил-2,9-бис(3,4,5-
триметоксифенил)гексагидр
о-2H-4,6-
(эпоксиметано)хромен-
8(8аH)-он

диметил-2-(2,4,5-
триметоксифенил)-
3,4,4а,5,8,8а-гексагидро-2H-
хромен-4,8-диол

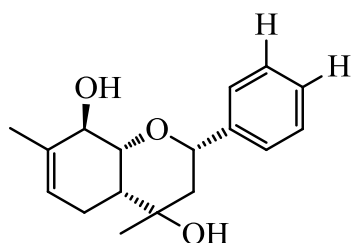
**39**

(2*R*,4*S*,4а*R*,6*S*,7*R*,8а*R*,9*S*)-4,7-
диметил-2,9-бис(2,3,4-
триметоксифенил)гексагидро
-2H-4,6-
(эпоксиметано)хромен-
8(8аH)-он

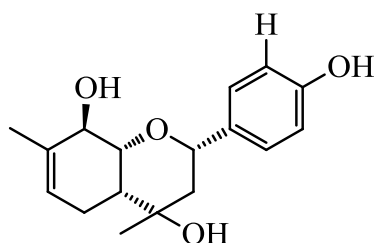
диметил-2-(2,4,6-
триметоксифенил)-
3,4,4а,5,8,8а-гексагидро-2H-
хромен-4,8-диол

**40**

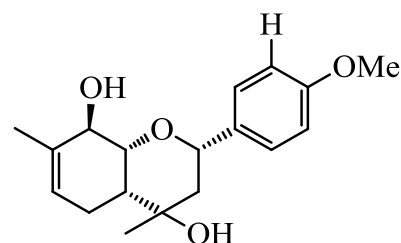
(2*S*,4*R*,4а*R*,8*S*,8а*R*)-4,7-
диметил-2-(2,4,5-
триметоксифенил)-
3,4,4а,5,8,8а-гексагидро-2H-
4,8-эпоксихромен

**41**

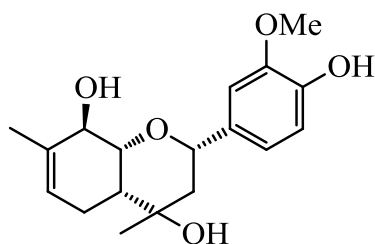
(2*S*,4*R*,4а*R*,8*R*,8а*R*)-4,7-
диметил-2-фенил-
3,4,4а,5,8,8а-гексагидро-2H-
chromene-4,8-diol

**42**

(2*S*,4*R*,4а*R*,8*R*,8а*R*)-2-(4-
гидроксифенил)-4,7-
диметил-3,4,4а,5,8,8а-
гексагидро-2H-хромен-4,8-
диол

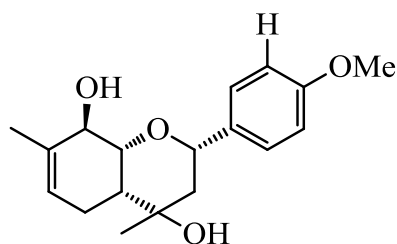
**43**

(2*S*,4*R*,4а*R*,8*R*,8а*R*)-2-(4-
метоксифенил)-4,7-
диметил-3,4,4а,5,8,8а-
гексагидро-2H-хромен-4,8-
диол



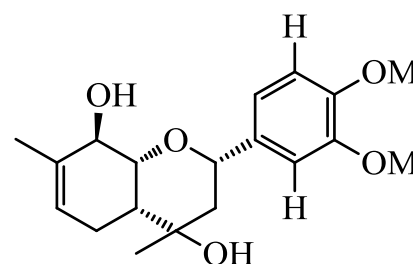
44

(2*S*,4*R*,4*aR*,8*R*,8*aR*)-2-(4-
гидрокси-3-метоксифенил)-
4,7-диметил-3,4,4*a*,5,8,8*a*-
гексагидро-2*H*-хромен-4,8-
диол



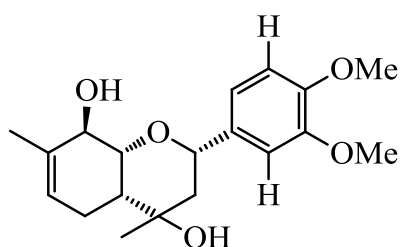
45

(2*S*,4*R*,4*aR*,8*R*,8*aR*)-2-(4-
метоксифенил)-4,7-диметил-
3,4,4*a*,5,8,8*a*-гексагидро-2*H*-
хромен-4,8-диол



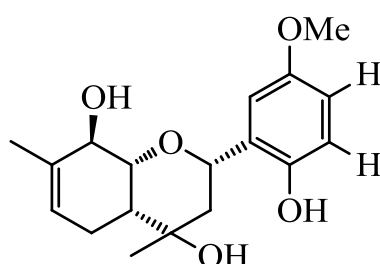
46

(2*S*,4*R*,4*aR*,8*R*,8*aR*)-2-(3,4-
диметоксифенил)-4,7-
диметил-3,4,4*a*,5,8,8*a*-
гексагидро-2*H*-хромен-4,8-
диол



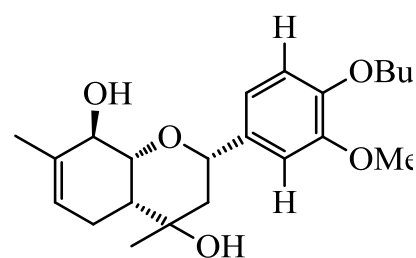
47

(2*S*,4*R*,4*aR*,8*R*,8*aR*)-2-(3,4-
диметоксифенил)-4,7-
диметил-3,4,4*a*,5,8,8*a*-
гексагидро-2*H*-хромен-4,8-
диол



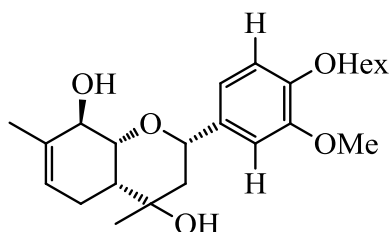
48

(2*S*,4*R*,4*aR*,8*R*,8*aR*)-2-(2-
гидрокси-5-метоксифенил)-
4,7-диметил-3,4,4*a*,5,8,8*a*-
гексагидро-2*H*-хромен-4,8-
диол



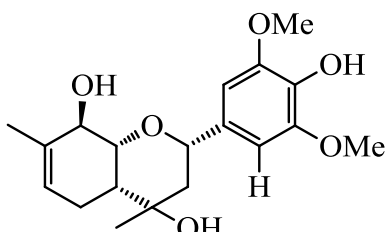
49

(2*S*,4*R*,4*aR*,8*R*,8*aR*)-2-(4-
бутоксифенил)-3-метоксифенил)-
4,7-диметил-3,4,4*a*,5,8,8*a*-
гексагидро-2*H*-хромен-4,8-
диол



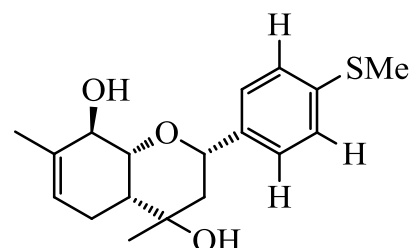
50

(2*S*,4*R*,4*aR*,8*R*,8*aR*)-2-(4-



51

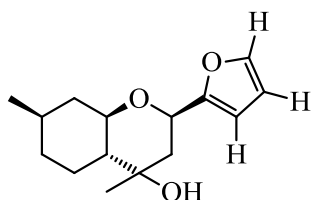
(2*S*,4*R*,4*aR*,8*R*,8*aR*)-2-(4-



52

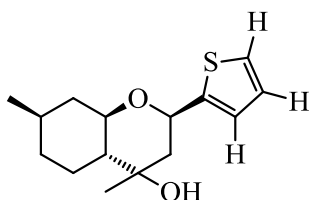
(2*S*,4*R*,4*aR*,8*R*,8*aR*)-4,7-

(гексилокси)-3-
метоксифенил)-4,7-
диметил-3,4,4а,5,8,8а-
гексагидро-2*H*-хромен-4,8-
диол

**53**

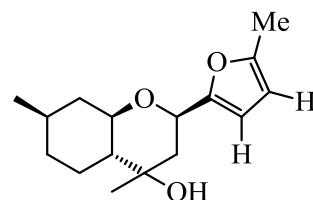
(2*R*,4*R*,4а*R*,7*R*,8а*R*)-2-
(фуран-2-ил)-4,7-
диметилоктагидро-2*H*-
хромен-4-ол

гидрокси-3,5-
диметоксифенил)-4,7-
диметил-3,4,4а,5,8,8а-
гексагидро-2*H*-хромен-4,8-
диол

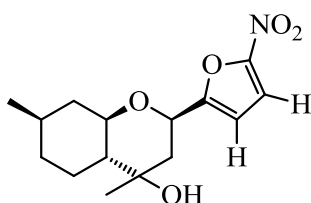
**54**

(2*R*,4*R*,4а*R*,7*R*,8а*R*)-4,7-
диметил-2-(тиофен-2-
ил)октагидро-2*H*-хромен-4-
ол

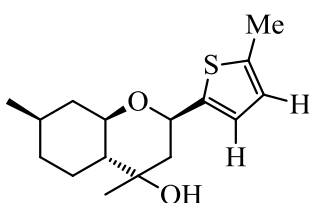
диметил-2-(4-
(метилтио)фенил)-
3,4,4а,5,8,8а-гексагидро-2*H*-
хромен-4,8-диол

**55**

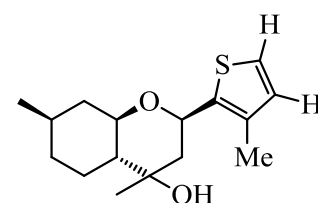
(2*R*,4*R*,4а*R*,7*R*,8а*R*)-4,7-
диметил-2-(5-метилфуран-
2-ил)октагидро-2*H*-хромен-
4-ол

**56**

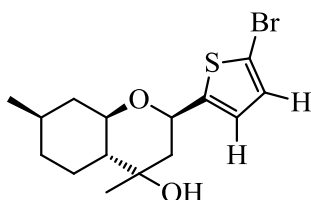
(2*R*,4*R*,4а*R*,7*R*,8а*R*)-4,7-
диметил-2-(5-нитрофуран-2-
ил)октагидро-2*H*-хромен-4-
ол

**57**

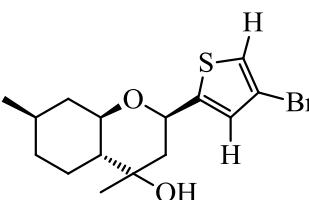
(2*R*,4*R*,4а*R*,7*R*,8а*R*)-4,7-
диметил-2-(5-метилтиофен-
2-ил)октагидро-2*H*-хромен-
4-ол

**58**

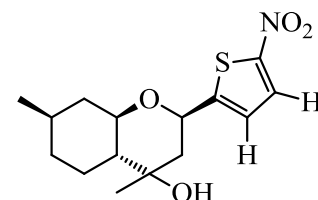
(2*R*,4*R*,4а*R*,7*R*,8а*R*)-4,7-
диметил-2-(3-метилтиофен-
2-ил)октагидро-2*H*-хромен-
4-ол

**59**

(2*R*,4*R*,4а*R*,7*R*,8а*R*)-2-(5-
бромтиофен-2-ил)-4,7-

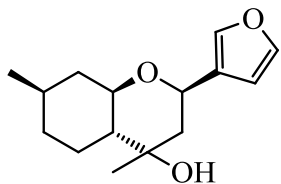
**60**

(2*R*,4*R*,4а*R*,7*R*,8а*R*)-2-(4-
бромтиофен-2-ил)-4,7-

**61**

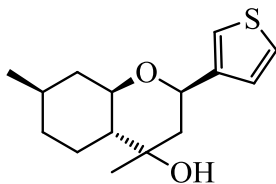
(2*R*,4*R*,4а*R*,7*R*,8а*R*)-4,7-
диметил-2-(5-нитроттиофен-

диметилоктагидро-2*H*-
хромен-4-ол

**62**

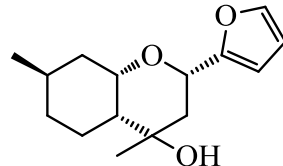
(2*R*,4*R*,4*aR*,7*R*,8*aR*)-2-
(фуран-3-ил)-4,7-
диметилоктагидро-2*H*-
хромен-4-ол

диметилоктагидро-2*H*-
хромен-4-ол

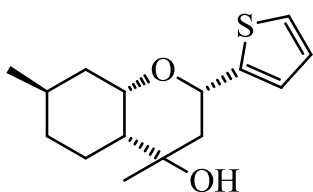
**63**

(2*R*,4*R*,4*aR*,7*R*,8*aR*)-4,7-
диметил-2-(тиофен-3-
ил)октагидро-2*H*-хромен-4-
ол

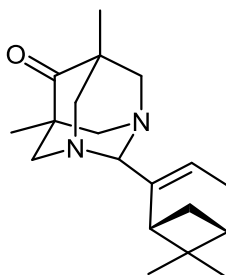
2-ил)октагидро-2*H*-хромен-
4-ол

**64**

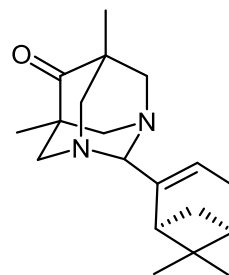
(2*S*,4*R*,4*aR*,7*R*,8*aS*)-2-
(фуран-2-ил)-4,7-
диметилоктагидро-2*H*-
хромен-4-ол

**65**

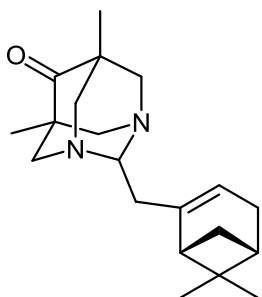
(2*S*,4*R*,4*aR*,7*R*,8*aS*)-4,7-
диметил-2-(тиофен-2-
ил)октагидро-2*H*-хромен-4-
ол

**66**

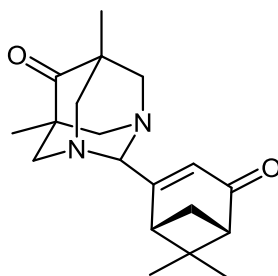
2-((1*S*,5*R*)-6,6-
диметилбicyclo[3.1.1]гепт-
2-ен-2-ил)-5,7-диметил-1,3-
диазаадамантан-6-он

**67**

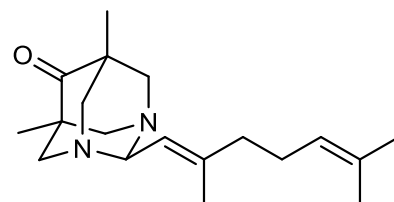
2-((1*R*,5*S*)-6,6-
диметилбicyclo[3.1.1]гепт-
2-ен-2-ил)-5,7-диметил-1,3-
диазаадамантан-6-он

**68**

2-(((1*S*,5*R*)-6,6-
диметилбicyclo[3.1.1]гепт-
2-ен-2-ил)метил)-5,7-
диметил-1,3-диазаадамантан-6-он

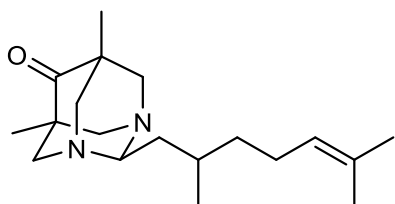
**69**

2-((1*S*,5*R*)-6,6-диметил-4-
оксобicyclo[3.1.1]гепт-2-ен-
2-ил)-5,7-диметил-1,3-
диазаадамантан-6-он

**70**

2-(2,6-диметилгепта-1,5-
диен-1-ил)-5,7-диметил-1,3-
диазаадамантан-6-он

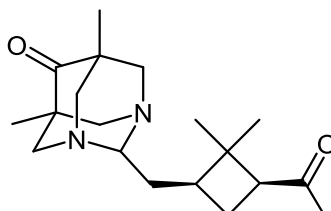
диметил-1,3-
диазаадамантан-6-он



71

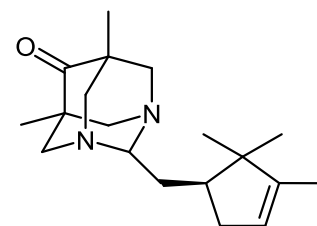
2-(2,6-диметилгепт-5-ен-1-
ил)-5,7-диметил-1,3-
диазаадамантан-6-он
(E/Z = 1:1)

диазаадамантан-6-он



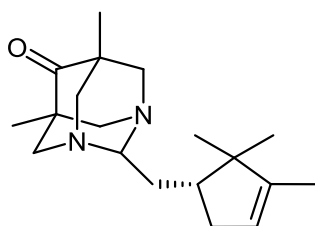
72

2-(((1*R*,3*R*)-3-ацетил-2,2-
диметилциклобутил)метил)-
5,7-диметил-1,3-
диазаадамантан-6-он



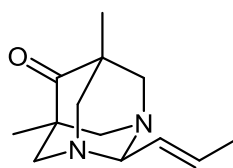
73

5,7-диметил-2-(((*S*)-2,2,3-
триметилциклопент-3-ен-1-
ил)метил)-1,3-
диазаадамантан-6-он



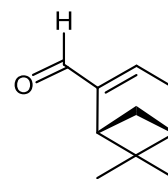
74

5,7-диметил-2-(((*R*)-2,2,3-
триметилциклопент-3-ен-1-
ил)метил)-1,3-
диазаадамантан-6-он



75

5,7-диметил-2-((*E*)-проп-1-
ен-1-ил)-1,3-диазаадамантан-
6-он



76

6,6-
диметилбицикло[3.1.1]гепт-
2-ен-2-карбальдегид

Рисунок 2.1. – Исследуемые соединения.

2.3. Фармакологические модели и тесты и методы исследования.

Исследуемые вещества растворяли в воде с Твином-80 и вводили внутрижелудочно с помощью зонда в дозах, указанных для каждой модели (по 0,2 мл на 10 г массы тела мыши и по 0,2 мл на 100 г массы крысы). Контрольной группе животных вводили равный объем водно-твинового раствора внутрижелудочно.

2.3.1. Тесты, используемые для оценки влияния исследуемых соединений на центральную нервную систему.

Данные тесты проводили на аутбредных (нелинейных) лабораторных мышцах (CD-1).

Тест «открытое поле» (Howard et al., 1997; Walsh, R. N., 1976) проводили с помощью автоматизированной фотосенсорной установки Tru Scan (Coulbourn, США), которая представляет собой квадратную арену размерами $26 \times 26 \times 33$ см (длина \times ширина \times высота) и содержит 16 равномерно расположенных отверстий (норок) диаметром 2,2 см. Исследуемые соединения вводили за 1 час до начала тестирования. Для оценки параметров двигательной-исследовательской активности животных помещали в центр установки хвостом к исследователю. В течение двух минут регистрировали основные параметры двигательной-исследовательской активности:

общая двигательная активность – общее количество двигательных актов,

время активности (сек) – общая продолжительность во времени всех двигательных актов,

неподвижный момент (сек) – время нахождения животных в неподвижном состоянии,

дистанция движения (см) – суммарное изменение векторных координат (в плоскости X-Y),

скорость движения (см/сек) – средняя скорость передвижения животного в плоскости X-Y,

количество и исследованных отверстий – количество заглядываний животным в любое из 16 отверстий в поверхности пола установки,

время исследовательской активности (сек) – общая продолжительность нахождения животных в процессе заглядывания в отверстия в полу,

количество вертикальных стоек – общее количество вертикальных подъемов животных (вставаний на задние лапы).

«Коразоловые судороги» вызывали интраперитонеальным введением 90 мг/кг коразола через 1 час после введения исследуемых соединений. Влияние на ГАМК_A-рецепторы по проценту летальности животных в группе, (Головина С.М., Андреева Н.И., 1986).

«Никотиновые судороги» использовали для оценки влияния на N-холинорецепторы и вызывали введением никотина (20 мг/кг, *subcutaneous*) через 1 час после введения исследуемого соединения и оценивали по проценту летальности животных в группе (Машковский М.Д. и др., 1983).

«Ареколиновый тремор» вызывали введением М-холиномиметика ареколина (25 мг/кг, *i.p.*) через 1 час после введения исследуемого соединения. Оценку эффективности исследуемых веществ оценивали по влиянию на продолжительности тремора (Ускова Н.В., Антелова Н.А., 1977).

Модель «хлоралгидратовый сон» использовали для оценки влияния исследуемых соединений на продолжительность сна, вызванного интраперитонеальным введением снотворного препарата хлоралгидрата в дозе 325 мг/кг через 1 час после введения исследуемого соединения. Влияние исследуемых веществ на сон оценивали по времени утраты и восстановления рефлекса переворачивания мышей из бокового положения (Каминка Э.Я. и др., 1982).

Взаимодействие с L-ДОФА (Лаврецкая Э.Ф., 1985) использовали для оценки влияния исследуемых веществ на дофаминергическую систему. L-ДОФА вводили в интраперитонеально в дозе 200 мг/кг через час после введения исследуемых агентов. Эффект оценивали по способности исследуемых агентов оказывать влияние на параметры двигательной исследовательской активности в модели «открытое поле», регистрируемых с помощью установки Tru Scan (США).

Тест «йохимбиновая токсичность» использовали для выявления адренергического компонента в фармакологической активности исследуемых агентов. (Larín I.P., 1980). Йохимбин вводили интраперитонеально в дозе 40 мг/кг через час после введения исследуемых соединений. Эффект оценивали по количеству погибших животных в группе.

2.3.2. Оценка противопаркинсонической активности.

2.3.3.1. Модель Паркинсонического синдрома (ПС) у мышей и крыс, вызванного введением нейротоксина МФТП (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина). Данная модель является наиболее адекватной моделью ПС, поскольку МФТП вызывает избирательное повреждение дофаминергических нейронов черной субстанции. МФТП вводят внутрибрюшинно мышам линии C57Bl/6 в дозе 30 мг/кг или крысам в дозе 40 мг/кг за 15 мин до введения исследуемых веществ. Оценку экстрапирамидных нарушений начинали сразу же после введения нейротоксина и продолжали наблюдение в течение 2 часов. Эффективность исследуемых препаратов оценивали по способности ослаблять проявления ПС, вызванного введением МФТП: олигокинезии, ригидности и тремора, а так же регистрировали наличие и выраженность слюнотечения и пилоэрекции. Оценку вызванной введением нейротоксина олигокинезии производили с помощью модели «открытое поле» через 1,5 часа после инъекции МФТП, регистрируя параметры двигательной-исследовательской активности. Для количественной оценки ригидности использовали симптом «горбатости», выраженность которого зависит от мышечной ригидности и определяется по укорочению расстояния от шеи до основания хвоста за счет сгорбленности животного (ригидность оценивали по бальной системе: 0 – отсутствие ригидности, 1 – укорочение расстояния менее чем на 3 см, 2 – более чем на 3 см). Тремор оценивали по выраженности в баллах: 0 – отсутствие тремора, 1 – локальный мелкоамплитудный тремор головы,

передних лап и хвоста, 2 – локальный среднеамплитудный тремор, 3 – генерализованный мелко- или среднеамплитудный тремор и по продолжительности. Пилоэрекцию (взъерошивание шерсти) оценивали в альтернативной форме по наличию или отсутствию у крысы этого признака. Саливацию (слюноотделение) оценивали по размеру мокрого пятна на шее животного в баллах: 0 – отсутствие эффекта, 1 – до 0,5 см, 2 – до 1 см, 3 – до 2 см. (Воронина Т.А. и др., 2000).

Было проведено несколько серий экспериментов с использованием данной модели ПС:

1). *Исследование противопаркинсонической активности при однократном введении нейротоксина МФТП.* Эксперименты проводили на самцах мышей линии C57Bl/6. Индукцию ПС осуществляли путем внутрибрюшинного введения МФТП в дозе 30 мг/кг, группе контроля вводили физиологический раствор. Исследуемый агент в дозе 10 и 20 мг/кг вводили перорально через 15 минут после воспроизведения модели ПС. Олигокинезию оценивали через 1,5 часа после инъекции МФТП по двигательной-исследовательской активности в тесте «открытое поле».

2). *Исследование противопаркинсонической активности при трехдневном введении нейротоксина МФТП.* Эксперименты проводили на мышцах самцах линии C57Bl/6. Индукцию ПС осуществляли путем внутрибрюшинного введения МФТП в дозе 30 мг/кг в течение трех дней. Агент в дозе 20 и 30 мг/кг вводили перорально через 24 часа после последней инъекции МФТП. Олигокинезию оценивали через 1,5 часа после инъекции МФТП по двигательной-исследовательской активности в тесте «открытое поле».

3). *Исследование противопаркинсонической активности агента при десятидневном введении нейротоксина МФТП.* Индукцию ПС осуществляли путем внутрибрюшинного введения мышам самцам линии C57Bl/6 нейротоксина МФТП в дозе 25 мг/кг в течение 10 дней. Агент в дозе 20

мг/кг вводили перорально ежедневно через 4 часа после инъекции нейротоксина, препарат сравнения леводопу в дозе 20 мг/кг. Использовали четыре группы мышей по 10 шт: 1-я (контроль I) группа – животные, которым вводили физ. раствор, 2-я (контроль II) – животные, получавшие инъекцию МФТП внутривбрюшинно ежедневно, 3-я и 4-я группы – животные, которым вводили исследуемое соединение и препарат сравнения соответственно, на фоне индуцированного ПС. Оценивали выживаемость животных в каждой группе, изменение параметров двигательной активности регистрировали на установке Tru Scan (США).

4). *Исследование противопаркинсонической активности агента, при хроническом (30 дней) введении нейротоксина МФТП.* Индукцию ПС осуществляли путем внутривбрюшинного введения МФТП крысам самцам линии Вистар в дозе 40 мг/кг ежедневно в течение 30 дней. Агент в дозе 20 мг/кг вводили перорально ежедневно через 4 часа после инъекции нейротоксина, препарат сравнения леводопу в дозе 20 мг/кг ежедневно через 4 часа после индукции ПС. Использовали 6 групп крыс по 10 шт: 1-я (контроль I) группа – интактные животные; 2-я (контроль II) – животные, получавшие инъекцию МФТП внутривбрюшинно ежедневно; 3-я – животные, получавшие исследуемый агент на фоне индуцированного ПС; 4-я – животные, получавшие исследуемый агент ежедневно; 5-я – животные, получавшие в качестве лечения индуцированного ПС эталон сравнения леводопы; 6-я – животные, получавшие только леводопу ежедневно. Оценку олигокинезии проводили на 31 день от начала эксперимента, регистрируя параметры двигательной-исследовательской в тесте «открытое поле».

5). *Исследование противопаркинсонической активности агента согласно международному протоколу при 4-кратном введении нейротоксина МФТП.* (Jackson-Lewis V., Przedborski S., 2007). Противопаркинсоническую активность оценивали на модели Паркинсонического синдрома, индуцированного четырехкратным внутривбрюшинным введением

нейротоксина МФТП самцам мышей линии C57Bl/6 в дозе 20 мг/кг через каждые 2 часа в течение 8 часов. Исследуемые агенты в дозе 20 мг/кг вводили через 24 часа после четвертой инъекции нейротоксина. Влияние агентов оценивали через 2 час после введения исследуемых агентов по способности устранять проявления олигокинезии в тесте "Открытое поле" в течение 2 мин с помощью установки TruScan.

2.3.3.2. Стандартные модели для изучения противопаркинсонического действия исследуемых соединений (Хабриев Р.У., 2005) .

В описанных ниже моделях исследуемый агент вводили в дозе 20 мг/кг внутрижелудочно.

Модель каталепсии, вызванной трифтазином. Для создания выраженных экстрапирамидных нарушений трифтазин вводят белым беспородным крысам-самцам внутрибрюшинно в дозе 2 мг/кг через 30 минут после введения исследуемого агента. Каталепсию оценивают через 30, 60, 120 и 180 мин после введения трифтазина по методу Morpurgo (Morpurgo С., 1964).

Модель каталепсии, вызванной галоперидолом (Ossowska et al., 1998). Исследования проводили на беспородных крысах-самцах. Для создания выраженных экстрапирамидных нарушений галоперидол вводили внутрибрюшинно в дозе 1,5 мг/кг. Галоперидол вводили одновременно с исследуемым агентом. Каталепсию оценивали через 60, 120 и 180 мин после введения галоперидола с использованием параллельных перекладин.

«Ареколиновый тремор». Эксперименты проводили на белых беспородных мышах. Ареколин вводили подкожно в дозе 25 мг/кг через 20 мин после введения исследуемого агента, регистрировали латентный период и продолжительность тремора (сек).

2.3.3. Определение содержания дофамина в стриатуме с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией (Клодт П. М. и др., 2005).

На льду быстро выделяли стриатум у предварительно декапетированных животных групп, описанных в разделе 2.3.3.1. пункт 4, который замораживали в жидком азоте и хранили при -60°C до биохимического определения.

Выделенный образец ткани взвешивали и гомогенизировали на холоду в стеклянном гомогенизаторе в $0,4 \text{ M HClO}_4 + 0,01\% \text{ Na}_2\text{EDTA}$ с добавлением внутреннего стандарта, в качестве которого использовали дигидроксibenзиламин. Объем гомогенизирующего буфера каждый раз подбирали индивидуально в зависимости от веса ткани ($\times 10$). Затем гомогенат центрифугировали 15 мин при 15000 об/мин и 4°C . Растворы стандартов ДА и дигидроксibenзиламина были приготовлены в концентрации $1 \text{ нг}/20 \text{ мкл}$ в $0,4 \text{ M HClO}_4$. Приготовленные пробы и растворы стандартов хранились при -60°C . Определение проводили на хроматографе Waters-460 с электрохимическим детектором LC4. Напряжение на рабочем электроде составляло $+0,70 \text{ V}$, электрод сравнения – Ag/AgCl . Образец пробы объемом 20 мкл наносили на колонку размером $150 \times 4,6 \text{ мм}$, заполненную обращено-фазовым сорбентом (Licrosorb, C18) и защищенную предколонкой ($30 \times 4,6 \text{ мм}$, C18). В качестве элюирующего раствора использовали буфер с 4% метанолом (На 500 мл буфера: $6,53 \text{ г}$ дигидрофосфата калия, 150 мг октансульфоновой кислоты, 250 мкл $0,2 \text{ M}$ раствора натриевой соли EDTA, 20 мл метанола), $\text{pH} = 3,34$. Скорость потока составляла $1 \text{ мл}/\text{мин}$. На полученных хроматограммах вычисляли высоты пиков и относительно внутренних и внешних стандартов рассчитывали концентрацию ДА в ткани ($\text{нг}/\text{г}$ ткани).

2.3.4. Определение нахождения исследуемых веществ в плазме крови и головном мозге животных.

Исследуемые соединения вводили внутрижелудочно крысам Вистар в дозе 1200 мг/кг. Через 1 час у наркотизированных с помощью тиопентала натрия (30 мг/кг. *i.p.*) животных забирали кровь в вакуумные пробирки с путем трансторакальной пункции сердца. Далее животных подвергали эвтаназии и извлекали головной мозг. После забора крови выделяли плазму путем центрифугирования (15 мин. при 3000 об./мин.). головной мозг гомогенизировали в 60% этаноле и отфильтровывали. После осаждения белка в плазме и гомогенате ГМ с помощью метанола и экстракции этилацетатом, определяли нахождение исследуемых веществ с помощью ГХ\МС.

2.3.5. Оценка нейроресторационных свойств исследуемых веществ.

Наркотизированным с помощью эфира самцам мышей линии C57Bl/6 вводили нейротоксин МФТП (20 мг/кг каждые 2 часа в течение 8 часов, *i.p.*). Исследуемое соединение вводили внутрижелудочно через 24 часа после последней инъекции нейротоксином МФТП в дозе 20 и 5 мг/кг. Далее исследуемое соединение вводили аналогично в течение 14 дней в режиме 5 дней в неделю (всего 15 доз). Через 7 дней после последнего введения исследуемого вещества мышей перфузировали транскардиально с помощью фосфатно-солевого буфера, затем 4% параформальдегидом в фосфатно-солевом буфере в соответствии с методическими рекомендациями (Gage, G. J., 2012). Далее извлекли ГМ и подвергали гистологической обработке с запечатыванием в парфиновые блоки с использованием комплекса MICROM («Карл Цейс» Германия).

Фиксированный и заключенный в парафин ГМ был разрезан на секции толщиной 5 мкм, каждый 5-й срез брали для ТН окрашивания. Срезы депарафинизировали с процедурой последующего извлечения цитратного

антигена. Далее срезы были окрашены по стандартным методикам (Penttinen, A. M. et al, 2016; Saarenpaa, T. et al, 2017).

Окрашенные секции были сканированы с помощью автоматического сканера (3D Histech. Будапешт, Венгрия), и изображения были преобразованы в 16-битную шкалу серого. Сигнал от кортикального окрашивания был использован для измерения неспецифического окрашивания фона. Интегрированные оптические плотности в изображениях были измерены в ImageJ (NIH) и разделены на площади в пикселях.

2.3.6. Оценка влияния длительного введения исследуемого агента на жизненно важные органы и системы.

Влияние длительного внутрижелудочного введения изучали на самцах крыс линии Вистар в течение 30 дней. Животные были рандомизированы по группам: 1-я (контроль I) группа – животные, получавшие физ. раствор; 2-я (контроль II) – животные, получавшие инъекцию МФТП внутрибрюшинно ежедневно; 3-я – животные, получавшие исследуемый агент на фоне индуцированного ПС; 4-я – животные, получавшие исследуемый агент ежедневно; 5-я – животные, получавшие в качестве лечения индуцированного ПС эталон сравнения леводопу; 6-я – животные, получавшие только леводопу ежедневно. Нейротоксин вводили внутрибрюшинно в дозе 40 мг/кг, диол и референс препарат (леводопа) вводили в дозе 20 мг/кг per os.

На 30-й день от начала эксперимента была взята периферическая кровь для общего анализа из сосудов хвоста. Для биохимического анализа была забрана кровь из шейных сосудов. Для гистологического исследования были взяты жизненно-важные органы: легкие, сердце, печень и почки.

Воздействие агентов на сердечно-сосудистую систему оценивали при внутрижелудочном введении в дозе 5 мг/кг крысам по изменению артериального давления (АД) и частоты сердечных сокращений (ЧСС).

Регистрацию показателей вели на протяжении часа после введения агентов. Показатели регистрировали с помощью прибора фирмы «Coulbourn instruments» (США). (Хабриев Р.У., 2005).

2.3.7. Гистологическое исследование

Полученный для морфологического исследования материал подвергали гистологической обработке на комплексе MICROM («Карл Цейс» Германия) по стандартной методике:

- фиксация в 4% растворе параформальдегида, приготовленном на 0,1 М фосфатном буфере с рН 7,0 – 7,2 в течение 4 суток;
- промывка образцов в проточной воде не менее 4 - 5 часов;
- автоматическая проводка на аппарате HMP 110 по схеме (Р. Лилли, 1969):
 - этанол 60° – 30 мин,
 - этанол 70° – 1 час,
 - этанол 80° – 1 час,
 - этанол 96° – 1 час 10 мин,
 - бутанол – 1 час,
 - этанол – ксилол – 30 мин,
 - ксилол I – 40 мин,
 - ксилол II – 40 мин,
 - гистопласт I – 3 часа при $t^{\circ} - 60^{\circ}\text{C}$ (температура плавления гистопласта – 58°C),
 - гистопласт II – 5 часов при $t^{\circ} - 60^{\circ}\text{C}$;
- заливка в парафиновые блоки на станции AP 280 (для заливки в блоки используется гистопласт с t° плавления 58°C);
- изготовление на ротационном микротоме НМ 335Е срезов толщиной 3–5 мкм, использование в работе одноразовых сменных лезвий;

- обзорная окраска гематоксилином Лили – Майера и 10 % эозином (Р. Лилли, 1969) в автомате HMS 70 - время окраски 1 час 15 мин. В автомате одновременно окрашивается 70 препаратов;
- заключение в бальзам Shandonmount.

Окрашенные препараты исследовали методом световой микроскопии в проходящем свете, а сердце - дополнительно в поляризованном свете на микроскопе Axioskop 40 (Carl Zeiss, Germany), с последующим микрофотографированием с использованием фотокамеры AxioCam MRc и программного обеспечения AxioVision 4.5.

2.3.8. Исследование показателей крови

Гематологические показатели периферической крови, взятой из хвоста животных, определяли на гемоанализаторе «Medonic» CA 530» (Швеция).

Для биохимического анализа была забрана кровь из шейных сосудов. Биохимические показатели крови: аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), малонового диальдегида (МДА) и общего белка определяли с использованием стандартных диагностических наборов фирмы “Ольвекс-диагностикум” на фотометре - 5010 «Boehringer Mannheim» (Германия).

2.3.9. Исследование анальгетической активности.

Для определения химического болевого раздражения была использована модель «уксусные корчи» (УК), представляющая собой модель острого перитонита. Болевая реакция возникает в результате раздражения висцеральных рецепторов химическим агентом – 0,75% уксусной кислотой, сопровождающаяся сокращением абдоминальной мускулатуры, экстензии задних конечностей и вытягивания тела животных.

Уксусные корчи вызывали внутрибрюшинным введением уксусной кислоты (0,75% по 0,25 мл/мышь), в течение 3-х мин через 5 мин после

введения кислоты регистрировали вызванные корчи (Koster R et al., 1959). Активность агентов на висцеральную боль представлена в виде среднего количества корчей в группе

В качестве моделей термического болевого раздражения была использована модель «Горячая пластина» (ГП).

«Горячая пластина». Животных помещали на медную пластину, нагретую до $54 \pm 0,5^{\circ} \text{C}$, ограниченную цилиндром из оргстекла (15 см x 15 см), и фиксировали латентное время болевой реакции – облизывание задней лапы или подпрыгивание (Eddy N.B., Leimbach D., 1953).

Для определения участия различных нейромедиаторных систем центральной нервной системы ГМ в механизмах анальгетической активности исследуемых соединений в отдельной серии экспериментов была изучена анальгетическая активность агентов в модели «уксусные корчи» на фоне введения антагонистов различных рецепторов. Ниже перечислены антагонисты и схема экспериментов.

Налоксон – неселективный антагонист опиоидных рецепторов вводили интрапериотнеально в дозе 1 мг/кг за 15 мин до введения исследуемых агентов (Lewanowitsch T. et al., 2006).

Римонабант – антагонист каннабиноидных CB_1 рецепторов вводили интраперитонеально в дозе 3 мг/кг за 10 мин до введения агентов (Booker L. et al., 2009)

Ондансетрон – антагонист 5-HT₃-серотониновых рецепторов вводили интраперионеально в дозе 0,5 мг/кг за 15 мин до введения исследуемых соединений (Sari, M. H. M. et al, 2014).

Кетансерин тартрат – антагонист 5HT₂-серотониновых рецепторов вводили внутрибрюшинно в дозе 0,3 мг/кг за 15 мин до введения агентов (Sari, M. H. M. et al, 2014).

Галоперидол – неселективный антагонист дофаминовых рецепторов вводили в дозе 1 мг/кг внутрибрюшинно за 15 мин до введения тестируемых соединений (Naidu, P.S. et al., 2003)

R(+)-SCH-23390 – антагонист дофаминовых D1-рецепторов вводили в дозе 0,05 мг/кг интраперитонеально за 15 мин до введения агентов (Sari, M. H. M. et al, 2014)

Сульпирид – антагонист D2-дофаминовых рецепторов вводили в дозе 5 мг/кг внутрибрюшинно за 15 мин до введения исследуемых агентов (Sari, M. H. M. et al, 2014).

Йохимбин – антагонист альфа2-адренорецепторов вводили внутрибрюшинно в дозе 1 мг/кг за 15 мин до введения агентов (Kaur, R. et al, 2005)

Бикукуллин – антагонист ГАМК_A-ергических рецепторов вводили внутрибрюшинно в дозе 1 мг/кг за 15 мин до введения агентов (Filho, A.W. et al., 2008)

Скополамин – антагонист мускариновых рецепторов вводили в дозе 2,5 мг/кг внутрибрюшинно за 5 мин до введения исследуемых агентов (Serrano, I. et al, 1992).

2.3.10. Исследование противовоспалительной активности.

Противовоспалительную активность соединений изучали на модели воспаления, вызванного введением раствора формалина (3%, 0,05 мл) в апоневроз стопы животного (Тринус Ф. Н. и др., 1974). Исследуемые соединения вводили за 1 час до введения флогогена. Через 5 часов после воспроизведения воспаления мышей забивали, отрезали лапы и взвешивали. Процент воспаления рассчитывали по формуле:

$$100 \% * (M_{\text{лв}} - M_{\text{лб/в}}) / M_{\text{лб/в}},$$

где $M_{\text{лв}}$ – масса лапы с воспалением, $M_{\text{лб/в}}$ – масса лапы без воспаления. Противовоспалительное действие изучаемых соединений

сравнивали с диклофенаком натрия, вводимым по аналогичной для агентов схеме в дозе 20 мг/кг.

2.3.11. Оценка раздражающего действия исследуемых веществ на слизистую оболочку желудка.

Оценку возможного повреждающего действия исследуемых соединений на слизистую оболочку желудка и двенадцатиперстной кишки изучали на белых крысах линии Вистар массой 200-250 г. (Marazzi-Uberti E., Turba C., 1961). Животным в течение 3 дней ежедневно вводили исследуемые агенты внутрижелудочно в дозе 30 мг/кг (суммарная доза 90 мг/кг), препарат сравнения индометацин натрия вводили аналогичным способом в дозе 20 мг/кг (суммарная доза 60 мг/кг). На 4-е сутки животных подвергли эвтаназии, извлекли желудки, рассекли по малой кривизне, с помощью дистиллированной воды промыли и визуально оценивали состояние слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки, обращая внимание на наличие складчатости, эрозий, изъязвлений и цвет слизистой оболочки.

2.4. Статистическая обработка.

Статистическую обработку данных вели с помощью стандартной программы Statistica 7.0, достоверность определяли по t-критерию Стьюдента и непараметрическому U-критерию Манна-Уитни.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Результаты скринингового исследования новых соединений параментанового ряда

Ранее в результате проведенного первичного скрининга на противосудорожную активность среди соединений параментанового ряда (Tolstikova T. G. et al, 2009) было обнаружено соединение **2** (рис. 3.1), которое в дозе 10 мг/кг полностью блокирует развитие судорог, вызванных введением коразола (рис 3.2) и значительно снижает процент гибели животных в тесте "никотиновые судороги" (рис. 3.3).

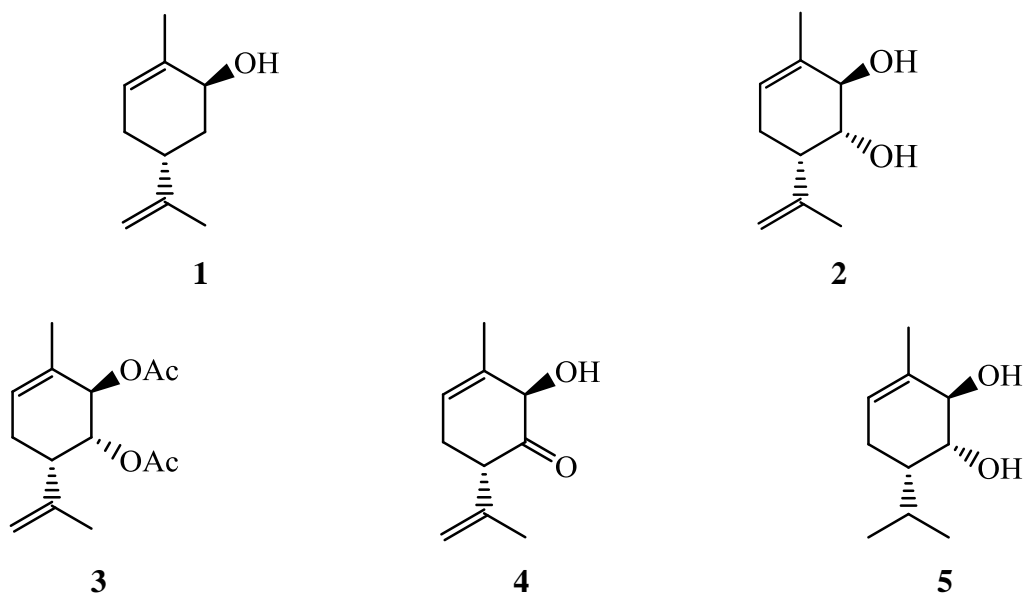


Рисунок 3.1 – Соединения 1-5.

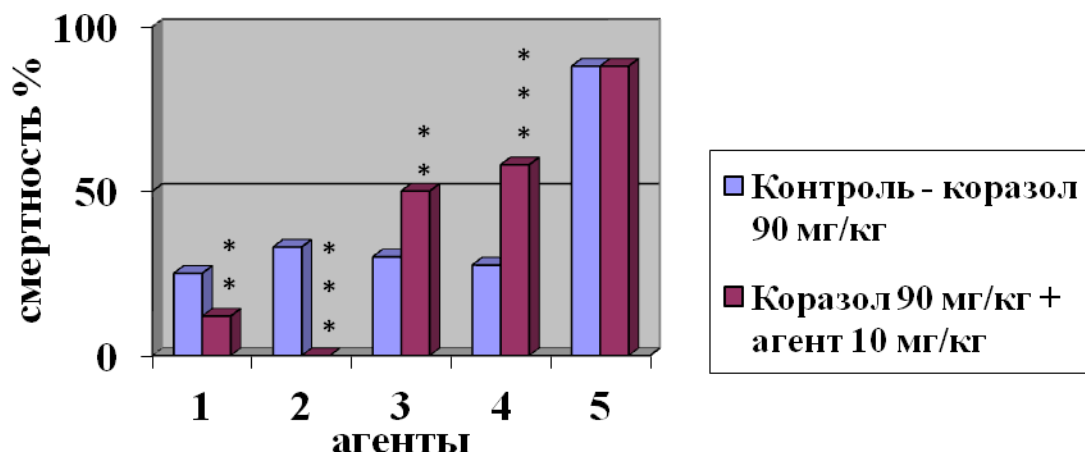


Рисунок 3.2 - Влияние соединений 1-5 на летальность животных в тесте «коразоловая токсичность». ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой.

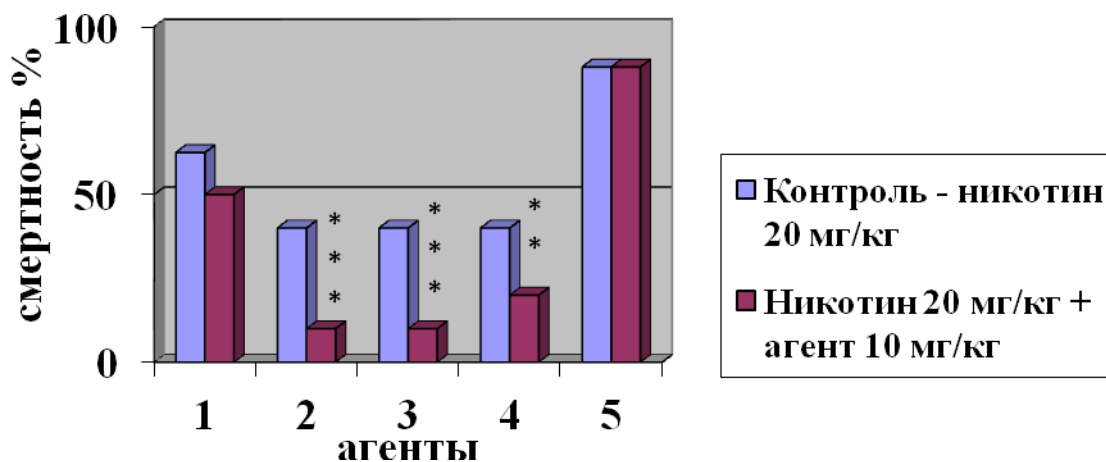


Рисунок 3.3 - Влияние агентов 1-5 на летальность животных в тесте «никотиновая токсичность». ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой

На основании первичного скрининга новых производных *пара*-ментанового ряда в дозе 10 мг/кг на противосудорожный эффект была выявлена связь «структура-активность» и определено, что важным условием

для проявления исследуемым агентом **2** противосудорожной активности в тестах "коразоловая" и "никотиновая токсичность" является наличие двойной связи в 8,9-положении (рис. 3.4).

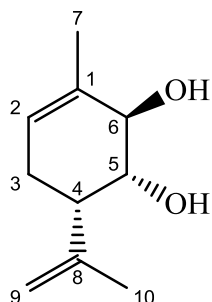


Рисунок 3.4 - Соединение **2**.

Учитывая данные о выраженном влиянии монотерпеноидов на поведенческие реакции животных (Umezū N. et al., 2001) был проведен эксперимент по влиянию исследуемых веществ (10 мг/кг, *per os*) на двигательную-исследовательскую активность мышей в автоматизированной установке Tru Scan. Результаты исследования показали, что вводимые в дозе 10 мг/кг соединения **1-5** не оказывают достоверного влияния на двигательную-исследовательскую активность мышей (табл. 3.1).

Таблица 3.1 - Влияние исследуемых соединений **1-5** на двигательно-исследовательскую активность мышей в тесте «открытое поле».

Показатель Агент	Общая двигательная активность	Время активности (сек)	Неподвижный момент (сек)	Дистанция (см)	Скорость движения (см/с)	Количество обследованных отверстий
Контроль	$9,5 \pm 0,7$	$106,8 \pm 2,0$	$13,2 \pm 2,0$	$377,7 \pm 57,9$	$3,0 \pm 0,3$	$7,2 \pm 0,6$
1	$13,5 \pm 1,9$	$101,2 \pm 2,3$	$18,9 \pm 2,3$	$291,8 \pm 25,2$	$2,4 \pm 0,2$	$6,0 \pm 1,7$
2	$13,0 \pm 0,9$	$102,3 \pm 1,8$	$17,8 \pm 1,8$	$273,4 \pm 24,4$	$2,3 \pm 0,2$	$5,4 \pm 0,8$
3	$11,2 \pm 1,2$	$104,3 \pm 2,5$	$15,8 \pm 2,5$	$326,7 \pm 15,3$	$2,7 \pm 0,1$	$4,0 \pm 0,8$
4	$14,0 \pm 0,8$	$100,5 \pm 2,6$	$19,5 \pm 2,6$	$293,5 \pm 37,7$	$2,4 \pm 0,3$	$4,7 \pm 1,6$
5	$9,8 \pm 1,5$	$108,2 \pm 1,5$	$11,8 \pm 1,5$	$393,3 \pm 26,7$	$3,2 \pm 0,2$	$4,7 \pm 1,4$

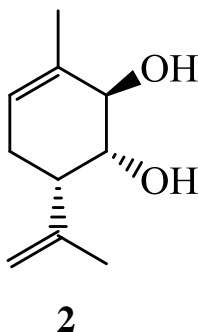


Рисунок 3.5 - Диол

3.2. Исследование острой токсичности диола

Введение диола в дозе 1000 мг/кг не привело к гибели животных, общее действие выражалось в незначительном угнетении центральной нервной системы. Введение диола в дозе 3000 мг/кг вызвало гибель 50% животных в группе в течение первых суток, остальные животные на протяжении эксперимента выжили. Доза, при которой наблюдалась 100% гибель животных (абсолютно смертельная доза (LD_{100})) составила 5000 мг/кг (табл.3.2).

Таблица 3.2 - Влияние однократного внутрижелудочного введения диола на выживаемость мышей

[illegible]

Таким образом, по результатам проведенного эксперимента была рассчитана средне смертельная доза (LD_{50}) для однократного внутрижелудочного способа введения, которая составила 4250 мг/кг. Исходя из классификации по степени воздействия на организм вредных веществ согласно ГОСТ 12.1.007-76 (Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности) диол относится к 3-му классу умеренно опасных веществ.

3.3. Исследование влияния диола на двигательную-исследовательскую активность мышей на фоне введения L-ДОФА

Для изучения влияния диола на дофаминергические структуры головного мозга использовали тест взаимодействия с L-дигидрооксифенилаланином (L-ДОФА), который является предшественником дофамина и легко проникает через гематоэнцефалический барьер, что позволяет использовать его нейронам головного мозга для синтеза катехоламинов. Введение L-ДОФА способствует синтезу избытка дофамина, а значит, провоцирует возникновение морфохимических сдвигов в двигательных структурах головного мозга и, как следствие, приводит к нарушению двигательной активности животных. (Сергутина А. В., Герштейн Л. М., 2004).

В результате эксперимента было установлено, что введение диола в дозе 10 мг/кг усилило угнетающее действия предшественника дофамина (табл. 3.3), что проявилось в достоверном уменьшении времени двигательной активности и увеличении неподвижного момента соответственно, а также уменьшении дистанции, пройденной животными. То есть диол проявляет однонаправленное с предшественником дофамина действие на дофаминергические структуры головного мозга.

Таким образом, диол, оказывая потенцирующее действие на дофаминергическую систему головного мозга, скорее всего, обладает

дофаминомиметическими свойствами. Также ранее уже было показано, что диол, вероятно, проявляет холинолитические свойства (Толстикова Т.Г. и др, 2009). Учитывая тот факт, что основные нейротрансмиттерные нарушения при болезни Паркинсона - это дефицит синтеза дофамина вследствие гибели дофаминергических нейронов, который влечет за собой избыточное продуцирование нейромедиатора ацетилхолина и глутамата и недостаточный синтез норадреналина и серотонина (Михайлусова О.И., Куташов В.А., 2015; Thomas V. et al, 2018), было принято решение об исследовании противопаркинсонических свойств диола, проявляющего активирующее влияние в отношении дофаминергической системы и угнетающее в отношении холинергической.

Таблица 3.3 - Влияние диола на эффекты L-ДОФА

Показатель Агент	Время активности (сек)	Неподвижный момент (сек)	Дистанция (см)	Скорость движения (см/с)	Количество обследованных отверстий	Количество вертикальных вставаний
Контроль	106,2 ± 2,4	13,8 ± 2,4	375,0 ± 43,1	3,1 ± 0,4	2,8 ± 0,0	13,2 ± 1,6
L-ДОФА	21,0 ± 2,4	99,0 ± 2,4	34,2 ± 5,4	0,28 ± 0,05	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
L-ДОФА + диол	13.0 ± 1.8*	107.0 ± 1.8*	19.2 ± 2.4*	0.14 ± 0.02	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

Примечание: * $P < 0.05$ по сравнению с группой L-ДОФА

3.4. Исследование противопаркинсонической активности диола на моделях паркинсонического синдрома, вызванного системным введением нейротоксина МФТП

Наиболее адекватной моделью паркинсонического синдрома у животных является модель экспериментального паркинсонизма, вызванного введением нейротоксина 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП), способного избирательно повреждать дофаминергические нейроны черной субстанции головного мозга.

Нейротоксин МФТП является одним из наиболее известных нейротоксинов, который способен избирательно разрушать дофаминергические нейроны головного мозга и широко применяется для воспроизведения экспериментального Паркинсонизма в моделях *in vivo* (Dovero S. et al, 2016). Нейротоксин МФТП легко проникает через гематоэнцефалический барьер, при действии МАО-В в астроцитах превращается в активный метаболит 1-метил-4-фенилпиридиния (МФП+), вызывающий энергетическую недостаточность за счет ингибирования комплекса -I дыхательной митохондриальной цепи (Калинина Т.С. и др., 2005), что приводит к гибели дофаминергических нейронов черной субстанции головного мозга (Jackson-Lewis et al, 2007; Cui M. et al, 2009). Модель паркинсонического синдрома у грызунов, вызванного введением нейротоксина МФТП, позволяет воспроизводить патогенетические изменения и симптоматику, характерную для проявления паркинсонического синдрома у людей. Наряду с развитием характерной симптоматики: ригидности, тремора, брадикардии - у животных после введения нейротоксина выявляется и дегенерация дофаминергических нейронов в нигростриатуме. Наиболее чувствительными к действию нейротоксина из лабораторных животных являются мыши линии C57Bl/6 (Миронов А.Н., 2013).

Исследование противопаркинсонической активности при однократном и трехдневном введении МФТП

Результаты экспериментов показали (табл. 3.4), что введение диола в дозах 10, 20 и 30 мг/кг оказывает положительное влияние на проявления олигокинезии, вызванной введением нейротоксина МФТП, и улучшает эмоциональный статус животных.

В эксперименте с однократным введением нейротоксина диол в дозе 10 мг/кг достоверно повысил показатели общей двигательной активности и увеличил время движения животных, а также оказал достоверное положительное влияние на исследовательскую активность мышей, увеличивая количество исследованных отверстий (табл. 3.4). В тоже время введение диола в дозе 20 мг/кг оказало положительное влияние на все параметры двигательно-исследовательской активности животных, восстанавливая показатели до уровня таковых у животных контрольной группы (табл. 3.4.).

Трехкратное введение МФТП в значительной степени усиливает повреждение дофаминергических нейронов черной субстанции головного мозга (Serra P.A. et al., 2008), тем самым позволяет смоделировать *in vivo* поздние стадии паркинсонического синдрома, практически не поддающегося лечению в медицинской практике.

При исследовании противопаркинсонической активности диола на модели паркинсонического синдрома, вызванного трехдневным введением нейротоксина МФТП, было показано, что диол в дозе 20 мг/кг также проявляет достоверную противопаркинсоническую активность, восстанавливая показатели двигательно-исследовательской активности у животных (табл. 3.5). Введение диола в дозе 30 мг/кг не оказало влияния на параметры исследовательской активности животных и скорость движения. То есть можно сделать вывод, что диол обладает куполообразной

дозазависимой противопаркинсонической активностью, проявляя наибольший эффект в дозе 20 мг/кг.

Исходя из полученных выше данных, дальнейшие исследования фармакологической активности диола были проведены для дозы 20 мг/кг.

Таблица 3.4 - Влияние диола на двигательно-исследовательскую активность мышей с индуцированным паркинсоническим синдромом при однократном введении МФТП.

Показатель Агент	Общая двигательная активность	Время активности (сек)	Дистанция (см)	Скорость движения (см/с)	Количество вертикальных стоек	Количество исследованных отверстий
Контроль	$82 \pm 1,97^{**}$	$66,6 \pm 2,31^{***}$	$309,3 \pm 7,94^{***}$	$2,54 \pm 0,14$ ***	$4,7 \pm 0,96$	$11,6 \pm 1,4^{**}$
МФТП	$59 \pm 3,8$	$39,8 \pm 5,8$	$171,4 \pm 37$	$1,3 \pm 0,3$	$5 \pm 1,6$	$4,9 \pm 0,9$
МФТП + диол 10 мг/кг	$77,2 \pm 5^{**}$	$57 \pm 5,3^*$	$257,3 \pm 29,5$	$2,1 \pm 0,2$	$5,8 \pm 1,8$	$7,7 \pm 1,07^*$
МФТП + диол 20 мг/кг	$80,7 \pm 4^{**}$	$59 \pm 4^{**}$	$276,5 \pm 24^{**}$	$2,25 \pm 0,2^{**}$	$8,5 \pm 2^*$	$7,6 \pm 1,7^*$

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ по сравнению с группой МФТП

Таблица 3.5. - Влияние диола на двигательно-исследовательскую активность мышей с индуцированным паркинсоническим синдромом в трехдневном эксперименте.

Показатель Агент	Общая двигательная активность	Время активности (сек)	Дистанция (см)	Скорость движения (см/с)	Количество вертикальных стоек	Количество исследованных отверстий
Интактная группа	88,1 ± 2,4***	70,2 ± 3,6***	361,6 ± 2,4***	2,9 ± 0,3**	15 ± 3,9	7,8 ± 1,1***
МФТП	43,4 ± 4,7	55,5 ± 6	264,5 ± 34,8	2,2 ± 0,3	12,2 ± 2	1,8 ± 0,6
МФТП + диол 20 мг/кг	81,9 ± 3,7 ***	70,1 ± 3,9**	351,8 ± 26,4**	2,9 ± 0,2**	11,1 ± 0,9	8,8 ± 1***
МФТП + диол 30 мг/кг	81,8 ± 2,6 **	66,8 ± 3,7*	335,5 ± 8,9*	2,7 ± 0,2	13 ± 1,7	3,8 ± 0,6*

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ по сравнению с группой МФТП

3.5. Влияние абсолютной конфигурации на противопаркинсоническую активность диола

Для определения влияния абсолютной конфигурации (Elier et al., 1994) на проявление диолом противопаркинсонической активности были синтезированы 8 его оптических изомеров (соединения **6-13**), для которых, в свою очередь, была изучена противопаркинсоническая активность на модели паркинсонического синдрома, вызванного введением нейротоксина МФТП (рис 3.6.).

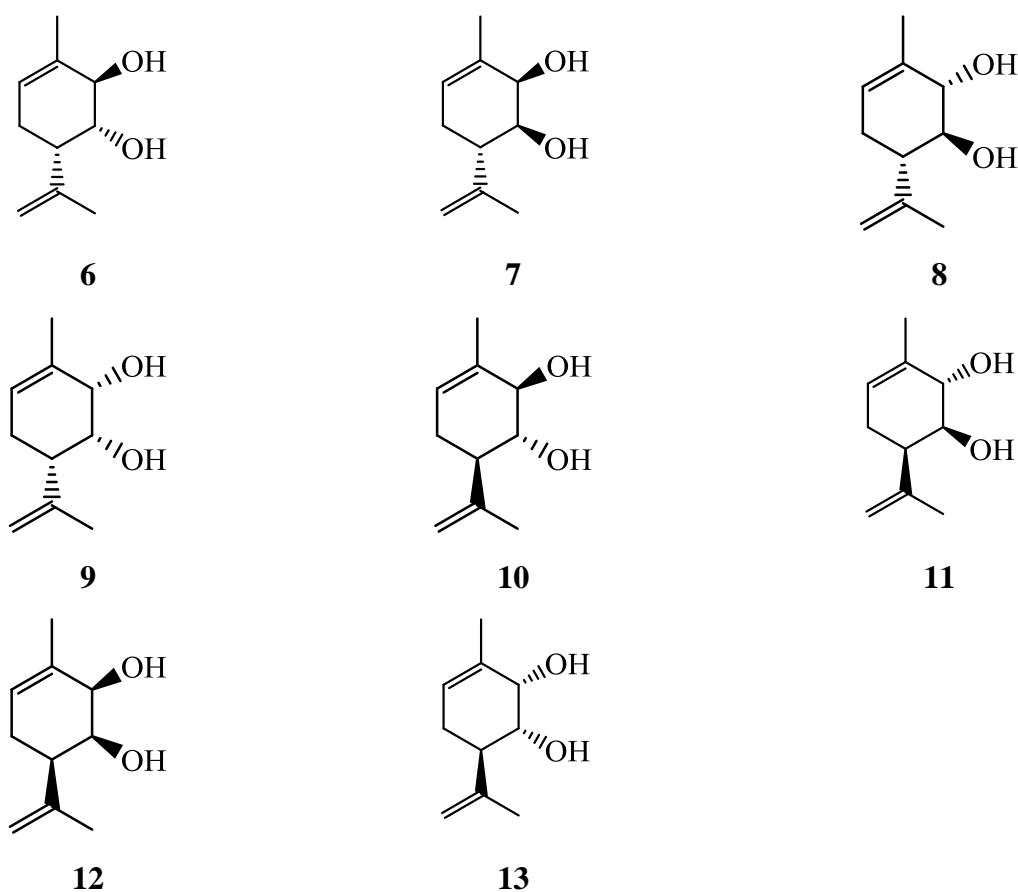


Рисунок 3.6 - Стереизомеры диола.

Результаты исследований показали, что проявление противопаркинсонической активности исследуемым соединением одновременно зависит от конфигурации и гидроксигрупп в 5-м и 6-м положении и изопропенильной группы в 4-м положении (рис. 3.4).

Наиболее выраженную противопаркинсоническую активность проявляет соединение **6** (таб. 3.6.), которое составляет 85% соединения **2**, то есть диола. Изменение конфигурации гидроксигруппы в 5-м положении с R на S (переход к соединению **7**) привело к полному исчезновению проявления противопаркинсонической активности исследуемым соединением (таб. 3.7.). Соединение **9** с измененной конфигурацией гидроксигруппы в 6-м положении проявило обратный эффект и усугубило проявления олигокинезии, вызванной введением нейротоксина МФТП, а также оказало выраженный седативный эффект (таб. 3.8.).

Соединение **8** с измененными положениями обеих гидроксигрупп, а также соединение **10** с измененной конфигурацией изопропенильной группы не оказали влияния на двигательную-исследовательскую активность животных с индуцированным ПС. (таб. 3.8.).

Одновременное изменение конфигурации гидроксигрупп и изопропенильной группы на противоположные при переходе к соединению **11**, которое составляет 15% соединения **2**, привело к уменьшению проявления противопаркинсонической активности до уровня тенденции (табл. 3.6.).

Таблица 3.6. - Противопаркинсоническая активность оптических изомеров диола на модели ПС, вызванного однократным введением МФТП.

Показатель Агент	Общая двигательная активность	Время активности (сек)	Дистанция (см)	Скорость движения (см/с)	Количество вертикальных стоек	Количество исследованных отверстий
Контроль	84,1 ± 1,9***	58,3 ± 3,9***	276,8 ± 27,8**	2,3 ± 0,2**	15,6 ± 3,28	6,5 ± 1,3***
МФТП	50,6 ± 8,1	27,8 ± 4,8	107,8 ± 20,6	0,9 ± 0,2	2,6 ± 0,8	2,8 ± 0,9
МФТП + 6	78,6 ± 5**	64,0 ± 5,5***	332,6 ± 39,6***	2,7 ± 0,3***	13,1 ± 2,5***	3,2 ± 0,9
МФТП + 11	57,9 ± 6,0	34,9 ± 4,3	147,8 ± 20,3	1,13 ± 0,2	4,4 ± 1,4	2,5 ± 0,9

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ по сравнению с группой МФТП

Таблица 3.7. - Противопаркинсоническая активность оптических изомеров диола на модели ПС, вызванного однократным введением МФТП.

Показатель Агент	Общая двигательная активность	Время активность (сек)	Дистанция (см)	Скорость движения (см/с)	Количество вертикальных стоек	Количество исследованных отверстий
Контроль	84,1 ± 1,9***	58,3 ± 3,9***	276,8 ± 27,8**	2,3 ± 0,2**	15,6 ± 3,28**	6,5 ± 1,3***
МФТП	71,8 ± 6,4	47,9 ± 4,5	218,1 ± 26,2	1,8 ± 0,2	8,9 ± 1,5	1,9 ± 0,5
МФТП + 7	64,9 ± 8,7	45,5 ± 8,2	212,4 ± 48,7	1,7 ± 0,4	3,5 ± 1,0	4,0 ± 1,3
МФТП + 13	80,2 ± 6,2*	55,6 ± 6,9	245,9 ± 34,6*	1,2 ± 0,2	14,4 ± 3,6**	3,11 ± 0,6*

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ по сравнению с группой МФТП

Таблица 3.8. - Противопаркинсоническая активность оптических изомеров диола на модели ПС, вызванного однократным введением МФТП.

Показатель Агент	Общая двигательная активность	Время активности (сек)	Дистанция (см)	Скорость движения (см/с)	Количество вертикальных стоек	Количество исследованных отверстий
Контроль	83,0 ± 2,36***	75,9 ± 1,2***	417,1 ± 21,2**	3,43 ± 0,2**	17,6 ± 5,4	5,4 ± 1,0
МФТП	69,9 ± 4,7	46,8 ± 4,4	211,8 ± 29,1	1,7 ± 0,3	11,3 ± 3,8	6,3 ± 1,8
МФТП + 10	65,5 ± 8,8	46,9 ± 6,0	158,8 ± 32,7	1,3 ± 0,3	3,9 ± 1,4	4,7 ± 2,1
МФТП + 8	77,4 ± 8,2	55,7 ± 7,4	253,3 ± 38,1	2,1 ± 0,3	8,1 ± 1,6	10,3 ± 1,0
МФТП +12	82,4 ± 5,8	56,6 ± 6,2	257,7 ± 36,6	2,1 ± 0,3	8,1 ± 2,0	7,9 ± 1,6
МФТП + 9	28,5 ± 10,1*	15,0 ± 5,4***	55,9 ± 20,9***	0,4 ± 0,2**	0,9 ± 0,6*	1,7 ± 0,6*

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ по сравнению с группой МФТП

По результатам проведенных исследований можно сделать вывод, что расположение изопропенильной группы не играет значимой роли в проявлении исследуемыми соединениями противопаркинсонической активности. Но стоит отметить, что наиболее эффективно улучшало показатели двигательно-исследовательской активности у животных с индуцированным паркинсоническим синдромом соединение **6** с S-конфигурацией изопропенильной группы. Проявление противопаркинсонической активности диолом в тесте с нейротоксином МФТП зависит от его абсолютной конфигурации, а именно от определенного взаиморасположения гидроксид- и изопропенильной группы, от практически полного устранения до резкого усиления симптомов ПС.

Таким образом, перспективным для дальнейших исследований является соединение **2** (диол), состоящий из наиболее активного стереоизомера **6** (85%) и изомера **11** (15%), который проявляет противопаркинсоническую активность на уровне тенденции. Данная оптическая чистота соответствует таковой коммерчески доступного исходного вещества (-)-вербенон, что делает получение диола (85:15) наиболее фармакоэкономичным.

Помимо положительного влияния на двигательно-исследовательскую активность животных с индуцированным паркинсоническим синдромом, вызванного введением МФТП, диол оказал положительное корригирующее действие на вегетативные нарушения, развитие тремора и ригидности, вызванных введением МФТП. Введение диола полностью устраняло проявления саливации, в 5 раз снизило процент животных с развившейся пилоэррекцией, а также значительно снизило выраженность тремора и проявления ригидности (таб. 3.9).

Таблица 3.9 - Влияние диола на развитие паркинсонических симптомов, вызванных введением МФТП

Группы	Проявления ПС:			
	Тремор (ср. балл)	Ригидность (ср. балл)	Саливация (ср. балл)	Пилоэрекция (% в группе)
Контроль	0	0	0	0
МФТП	1,6	1	2,75	100
МФТП + диол	0,25	0,38	0	20

Исследование противопаркинсонической активности диола согласно международному протоколу (четырёхкратное введение)

Для подтверждения противопаркинсонической активности был проведен эксперимент согласно международному протоколу, опубликованному в Nature Protocols (Jackson-Lewis V., Przedborski S., 2007). Согласно данному протоколу только хроническое введение нейротоксина МФТП (четырёхкратное в течение 8 часов с интервалом в 2 часа) способно вызвать снижение дофамина в стриатуме головного мозга от 40 до 90%, в зависимости от дозы введения нейротоксина от 14 мг/кг до 20 мг/кг соответственно.

Противопаркинсоническую активность оценивали на модели Паркинсонического синдрома, индуцированного четырёхкратным внутрибрюшинным введением нейротоксина МФТП самцам мышей линии C57Bl/6 в дозе 20 мг/кг через каждые 2 часа. Исследуемые агенты в дозе 20 мг/кг вводили через 24 часа после четвертой инъекции нейротоксина. Влияние агентов оценивали через 2 часа после введения исследуемых агентов по способности устранять проявления олигокинезии в тесте "Открытое поле" в течение 2 мин с помощью установки TruScan.

Результаты эксперимента показали, что диол и при данной схеме эксперимента в дозе 20 мг/кг достоверно улучшал показатели двигательной

активности, скорости движения, пройденного животным расстояния, а также исследовательской активности, выраженной в увеличении числа исследованных отверстий и количества вертикальных стоек (таб 3.10).

Таким образом, еще раз подтвердили, что диол в дозе 20 мг/кг обладает выраженной противопаркинсонической активностью.

Таблица 3.10 - Влияние диола на двигательно-исследовательскую активность мышей с индуцированным Паркинсоновским синдромом при четырехкратном введении МФТП.

Показатель Агент	Общая двигательная активность	Время активности (сек)	Дистанция (см)	Скорость движения (см/с)	Количество вертикальных стоек	Количество исследованных отверстий
Контроль	73,3 ± 2,3**	90,0 ± 1,4**	556,7 ± 9,6**	4,6 ± 0,2**	4,1 ± 1*	24,9 ± 3,3 **
МФТП	89,3 ± 1,8	64,1 ± 4,1	286,6 ± 36,5	2,5 ± 0,2	1,6 ± 0,6	8,5 ± 2,2
МФТП + диол 20 мг/кг	80,5 ± 3,9	74,8 ± 6,4*	439,6 ± 32,9**	3,6 ± 0,3**	6,5 ± 1,6*	14,8 ± 3,4*

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$ по сравнению с группой МФТП

3.6. Изучение противопаркинсонической активности в стандартных тестах, рекомендованных руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств

Далее были проведены стандартные тесты для изучения противопаркинсонической активности, рекомендованные руководством по экспериментальному изучению новых фармакологических веществ.

Трифтазин - типичный нейролептик, способен вызывать лекарственный Паркинсонизм за счет своих выраженных дофаминоблокирующих свойств и адренолитического действия. Введение трифтазина в больших дозах приводит к развитию экстрапирамидных расстройств (Машковский М.Д., 2005) и, как следствие, к развитию каталепсии у животных.

В результате проведенного эксперимента установили, что диол уменьшает выраженность каталепсии у животных и замедляет ее развитие, в то время как препарат сравнения леводопа лишь пролонгирует ее развитие, но не оказывает влияния на выраженность каталепсии. (рис. 3.7).

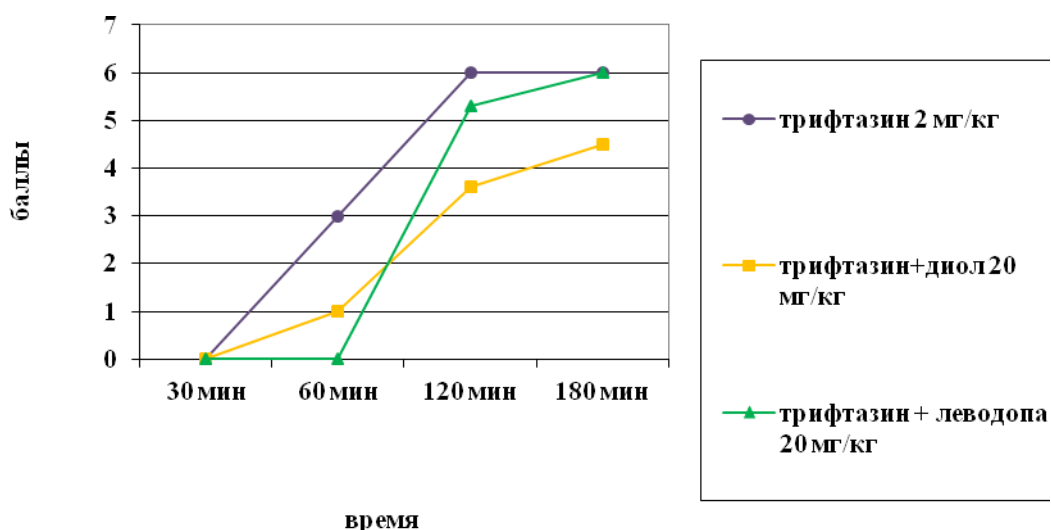


Рисунок 3.7 - Влияние диола на продолжительность каталепсии, вызванной трифтазином.

Галоперидол также способен вызвать лекарственный паркинсонизм за счет блокады постсинаптических D_2 -дофаминовых рецепторов и центрального α -адреноблокирующего действия (Харкевич Д.А., 2005). Введение галоперидола животным приводит к развитию экстрапирамидных расстройств, которые вызывают каталепсию. (Mohajjel Nayebi A., 2010).

Введение диола на фоне каталепсии, вызванной введением галоперидола, привело к значительному снижению общей продолжительности каталепсии у крыс и практически полному предотвращению ее развития (рис. 3.8, рис. 3.9).

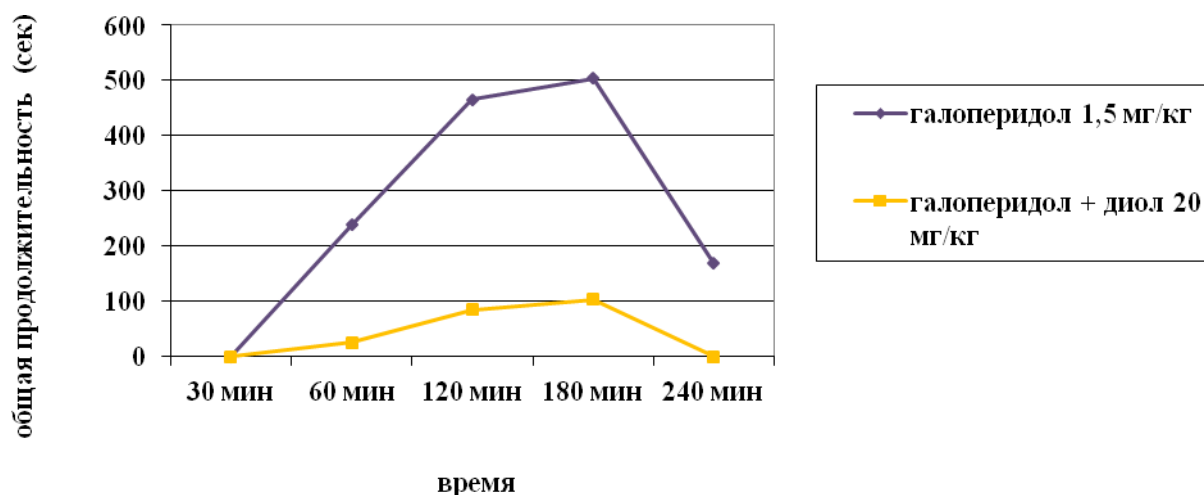


Рисунок 3.8 - Влияние диола на продолжительность каталепсии, вызванной галоперидолом.

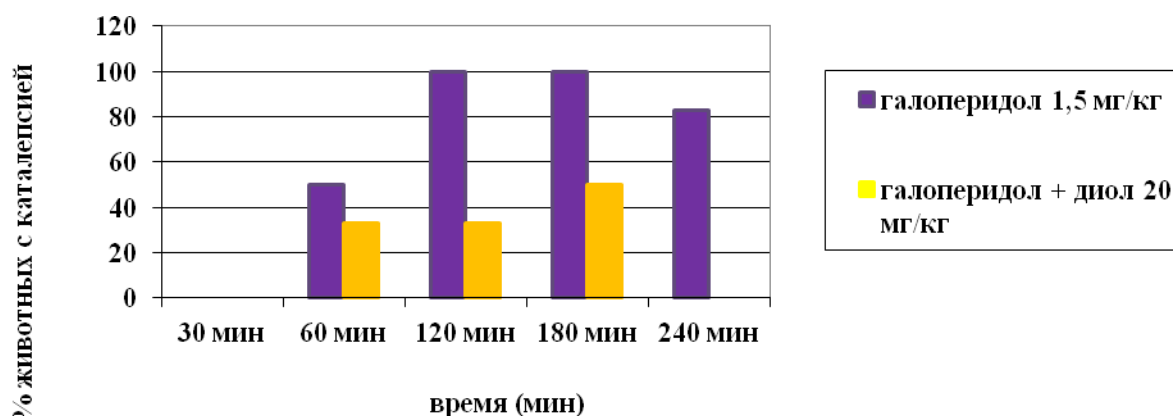


Рисунок 3.9 - Процент каталептических животных в группе.

В результате дефицита дофамина в ходе развития БП снижается эффективность тормозных дофаминергических влияний и при этом возрастает активность холинергических и глутаматергических воздействий (Федорова Н.В. и др., 2001; Savitt J.M. et al., 2006). Поэтому важно было оценить влияние диола на холинергическую систему головного мозга.

Ареколин, являясь агонистом мускариновых холинорецепторов, по своему физиологическому действию близок к мускарину и ацетилхолину. Под влиянием ареколина усиливается слюноотделение, снижается кровяное давление, происходит сокращение гладкой мускулатуры, суживаются зрачки. Ареколин в малых дозах возбуждает, вызывая судорожный синдром, а в больших дозах парализует центральную нервную систему (Комарова Т.Г. и др., 2007).

В тесте с М-холиномиметиком ареколином диол в дозе 20 мг/кг проявил холиномиметические свойства, уменьшая продолжительность судорог, вызванных введением ареколина (рис. 3.10).

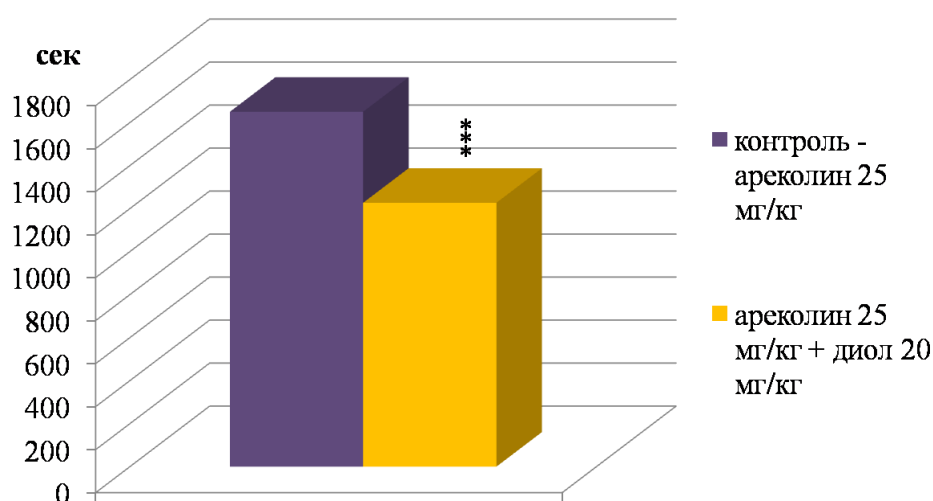


Рисунок 3.10 - Влияние диола на продолжительность ареколинового тремора. Примечание: *** $p < 0,001$ по сравнению с группой ареколина.

В тесте "никотиновой токсичности" диол в дозе 20 мг/кг уменьшал процент летальности животных, вызванных введением Н-холиномиметика никотина в 2,2 раза (табл. 3.11), что говорит о проявлении диолом Н-холинолитических свойств.

Таблица 3.11 - Влияние диола на летальность животных в тесте «никотиновая токсичность»

Гибель животных в %	
Контроль - никотин	Никотин + диол 20 мг/кг
56	25

Таким образом, диол одновременно обладает дофаминомиметическими и холинолитическими свойствами, поэтому использование диола, вероятно, позволяет скорректировать нейромедиаторный дисбаланс, возникающий при развитии болезни Паркинсона.

Для исключения влияния диола на адренергическую систему головного мозга, а именно участия его в ингибировании фермента МАО-В, был проведен тест взаимодействия исследуемого агента с йохимбином - ингибитором моноаминоксидазы МАО-В (Lapin I.P., 1980).

Результаты эксперимента показали, что диол в дозе 20 мг/кг увеличил процент смертности животных, вызванной введением йохимбина (таб. 3.12). Усиление токсического действия йохимбина диолом говорит о том, что диол не является ингибитором МАО-В (Машковский М.Д., 1983) и проявляет истинную противопаркинсоническую активность, действуя непосредственно на дофаминергическую систему головного мозга.

Таблица 3.12 - Влияние диола на токсический эффект йохимбина.

Гибель животных в %	
Контроль - йохимбин	Йохимбин + диол 20 мг/кг
40	80

Результаты проведенных экспериментов еще раз подтвердили, что диол обладает именно противопаркинсонической активностью, и механизм его действия, вероятно, направлен на дофаминергические и холинергические нейромедиаторные структуры головного мозга.

В независимом исследовании, проведенном НИИ фармакологии им. В.В. Закусова (Москва), в ряде экспериментов было установлено, что диол обладает противопаркинсонической активностью как в тестах с системным введением нейротоксина МФТП, так и в других стандартных экспериментальных моделях для изучения противопаркинсонической активности, а именно: галоперидол-индуцированной каталепсии, резерпин-индуцированных экстрапирамидных расстройствах, оксотремориновом треморе. (Valdman E. et al 2017) .

Изучение противопаркинсонической активности диола на модели ПС, вызванного системным введением нейротоксина МФТП, показало, что диол (20 мг/кг, *per os*) проявляет выраженную противопаркинсоническую активность, улучшая показатели горизонтальной и вертикальной двигательной активности в тесте "открытое поле". Также в результате проведенных исследований было обнаружено, что диол в дозе 20 мг/кг (*per os*) достоверно восстанавливает двигательную активность мышей в модели резерпин-индуцированной олигокинезии. На модели галоперидол-индуцированной каталепсии диол (20 мг/кг, *per os*) обладает выраженным антикаталептогенным действием аналогичным препарату сравнения L-DOPA (100 мг/кг, *per os*). В модели тремора, индуцированного введением оксотреморина (специфического агониста М-холинорецепторов) диол в дозе 20 мг/кг снижал выраженность тремора и количество животных с тремором. (Valdman E. et al 2017).

Полученные данные подтверждают наличие выявленной нами выраженной противопаркинсонической активности у диола.

3.7. Исследование противопаркинсонической активности при субхроническом введении нейротоксина МФТП

Известно, что развитие паркинсонического синдрома может заканчиваться летальным исходом, поэтому критерий выживаемости является одним из существенных показателей динамики развития заболевания (Лукьянова Л.Д. и др., 2007).

Для определения влияния диола на смертность животных, вызванную массовой гибелью дофаминергических нейронов вследствие введения нейротоксина МФТП, мышам вводили нейротоксин ежедневно в течение 10 дней в дозе 20 мг/кг внутривентриально. Диол и препарат сравнения леводопу также вводили ежедневно внутривентриально в дозе 20 мг/кг. Оценивали процент смертности животных в группах. Результаты эксперимента

показали, что диол способен снизить летальность животных, вызванную хроническим введением нейротоксина МФТП, эффективнее препарата сравнения леводопы (таб. 3.13).

Таблица 3.13. - Исследование противопаркинсонической активности диола при десятидневном введении МФТП.

	Контроль физ. р-р	Контроль, МФТП 30 мг/кг	МФТП 30 мг/кг + диол 20 мг/кг	МФТП 30 мг/кг + леводопа 20 мг/кг
Летальность, %	0	60	10	20

Таким образом, введение исследуемого агента на фоне длительного введения нейротоксина МФТП значительно снижает смертность животных, что еще раз подтверждает наличие выраженной противопаркинсонической активности.

В НИИ фармакологии им. В.В. Закусова было показано, что субхроническое (7-14дней) введение диола в дозе 20 мг/кг значительно снижает выраженность Паркинсонического синдрома, вызванного системным введением нейротоксина ротерона. В экспериментах с 6-OHDA индуцированным паркинсоническим синдромом было установлено, что диол в дозе 20 мг/кг значительно снижает проявления сенсомоторного дефицита правых конечностей в тесте "сужающаяся дорожка" уже на 7 день, в то время как эффект от введения L-DOPA проявлялся только на 14 день (Valdman E. et al 2017).

3.8. Исследование профилактического действия диола.

Для определения профилактического действия диола в отношении развития паркинсонического синдрома, вызванного введением нейротоксина

МФТП, животным вводили исследуемый агент в течение 10 дней в дозе 20 мг/кг, а на 11 сутки индуцировали ПС введением нейротоксина МФТП.

Результаты показали, что введение диола за 24 часа и более до индуцирования ПС не оказывает влияния на показатели двигательной исследовательской активности животных (таб. 3.14), что указывает на присущую диолу активность в отношении экспериментального паркинсонического синдрома, нежели нейропротекторного действия в моделях с нейротоксином МФТП. Поэтому применение исследуемого агента в качестве профилактического и нейропротекторного средства, вероятно, является нецелесообразным.

Таблица 3.14 - Влияние предварительного введения диола на двигательно-исследовательскую активность животных с индуцированным ПС.

Группа	Общая двигательная активность	Время активности (сек)	Дистанция (см)	Скорость движения (см/с)	Количество вертикальных стоек	Количество исследованных отверстий
Контроль	80,3 ± 2,5***	69,7 ± 2,4***	347,5 ± 20,5**	3,0 ± 0,2**	14,6 ± 1,8	4,6 ± 0,9***
МФТП	50,6 ± 8,1	27,8 ± 4,8	107,8 ± 20,6	0,9 ± 0,2	2,6 ± 0,8	2,8 ± 0,9
МФТП + диол	47,4 ± 7,9	32,4 ± 9,5	106,8 ± 23,6	0,8 ± 0,2	2,0 ± 1,3	1,9 ± 0,8

Примечание: **P<0,01; ***P<0,001 по сравнению с группой МФТП

3.9. Влияние диола на развитие индуцированного нейротоксином МФТП паркинсонического синдрома при длительном введении

Для исследования продолжительности противопаркинсонического действия диола был проведен длительный эксперимент (30 дней), в котором крысам ежедневно вводили нейротоксин МФТП, моделируя паркинсонический синдром, и, в качестве лечения, диол или препарат сравнения Леводопу. На 30-й день эксперимента оценивали параметры двигательной-исследовательской активности животных в установке Tru Scan.

Результаты эксперимента показали, что диол проявляет более выраженную противопаркинсоническую активность, чем препарат сравнения леводопа, снимая проявления олигокинезии, вызванной введением нейротоксина МФТП (таб. 3.15).

Таким образом, диол проявляет противопаркинсоническую активность при длительном применении, что является очень ценным критерием, учитывая хроническое течение болезни Паркинсона.

Таблица 3.15 - Противопаркинсоническая активность диола на модели ПС, в длительном (30 дней) эксперименте.

Группы	Общая двигательная активность	Двигательная активность (сек)	Дистанция (см)	Скорость движения (см/с)	Количество вертикальных стоек	Количество исследованных отверстий
Контроль	81,5 ± 2,2	77,3 ± 3,3	424,8 ± 28,5	3,5 ± 0,2	10,1 ± 0,7	6,5 ± 1,3
МФТП	66,4 ± 5,8*	52,4 ± 7,7**	264,6 ± 50,0**	2,16 ± 0,4*	6,5 ± 2	1,5 ± 0,7**
МФТП + диол	77,2 ± 4,0#	68,0 ± 3,5#	360,3 ± 29,4##	2,94 ± 2,0#	9,2 ± 1,2	2,4 ± 0,7
МФТП + леводопа	73,4 ± 4,1#	63,2 ± 5,2#	320,9 ± 33,6#	1,6 ± 0,3#	7,1 ± 1,7	2 ± 0,9
Диол	72,9 ± 3,2*	65,1 ± 3,2	343,1 ± 23,6	2,8 ± 0,2	8,6 ± 1,7	1,9 ± 0,5**
Леводопа	72,7 ± 3,5*	62,4 ± 3,6*	329,7 ± 24,7*	2,7 ± 0,2	8,7 ± 1,8	1,7 ± 0,5**

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; по сравнению контрольной группой; # $P < 0,05$; ## $P < 0,01$; по сравнению с гр.

МФТП

Учитывая подтвержденное в нескольких экспериментах однонаправленное с препаратом сравнения леводопой противопаркинсоническое действие диола, совместно с Институтом цитологии и генетики г. Новосибирска под руководством проф. Г.Т. Шишкиной были проведены исследования, направленные на определение содержания дофамина в стриатуме головного мозга крыс при моделировании хронического паркинсонического синдрома. Результаты эксперимента показали, что диол в дозе 20 мг/кг при ежедневном введении на фоне постоянно моделируемого паркинсонического синдрома путем введения нейротоксина МФТП действует аналогично препарату сравнения леводопе, ослабляя действие нейротоксина и увеличивая содержание дофамина в стриатуме головного мозга крыс (рис. 3.11).

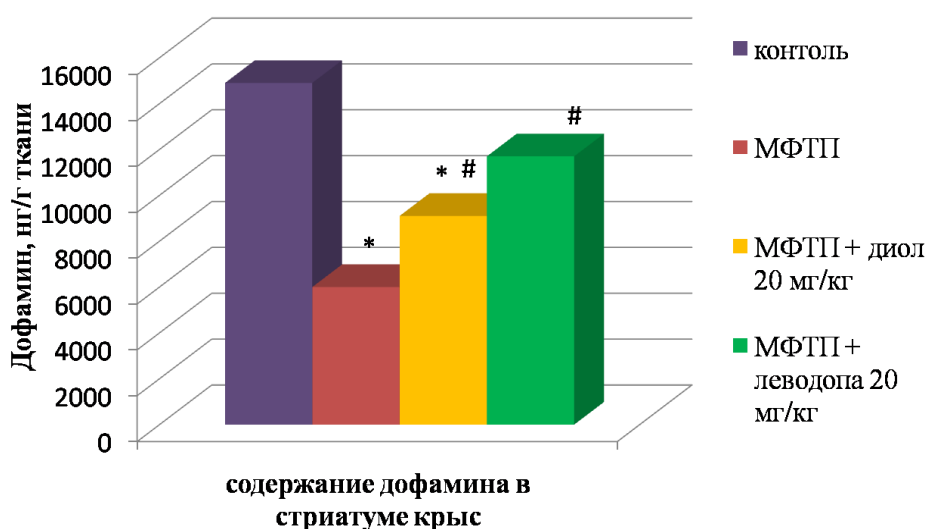


Рисунок 3.11 - Содержание дофамина в стриатуме; * $p < 0,05$ по сравнению с контрольной гр.; # $p < 0,05$ по сравнению с группой МФТП.

3.10. Влияние диола на основные органы и системы животных при длительном введении.

Изучение возможного негативного влияния исследуемого агента на живой организм было проведено в длительном эксперименте при

пероральном введении диола в дозе 20 мг/кг в течение 30 дней. В результате эксперимента было показано, что диол не оказывает влияния на количество потребляемой пищи и воды и набор массы тела крысами (табл. 3.16), состояние кожного и шерстяного покрова и слизистые оболочки. Также введение диола в дозе 20 мг/кг не оказывает влияние на температуру тела животных, показатели артериального давления и кардиограмму животных.

Таблица 3.16 - Изменение массы животных при введении диола в течение 30 дней.

Время измерения	Контроль	МФТП	МФТП + диол	МФТП + L-ДОФА	Диол 20 мг/кг	L-ДОФА 20 мг/кг
1й день эксперимента	200,3 ±3,34	202,5 ±3,7	198,8 ±5,7	210,4 ±3,7	197,1 ±6,53	197,5 ±3,3
29 день эксперимента	302,33 ±6,6	315,34 ±13,4	304,5 ±9,5	302,8 ±9,9	310,8 ±7,6	310 ±12,6

Достоверных различий между показателями периферической крови (число эритроцитов, число лейкоцитов, гематокрит, концентрация гемоглобина (табл. 3.17) и лейкоцитарной формулы (число эозинофилов, нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов) обнаружено не было (табл. 3.18).

Таблица 3.17 - Влияние длительного (30 дней) введения диола на показатели периферической крови

Группа	Число эритроцитов, $10^6/\text{мл}$	Число лейкоцитов, $10^3/\text{мл}$	Гематокрит, %	Концентрация гемоглобина, г/дл
Контроль	6,59±0,15	18,9±1,6	33,78±0,78	19,05±0,5
МФТП	6,7±0,34	18,5±1,5	33,28±1,73	16,7±0,68
МФТП + диол	6,54±0,44	21,8±0,96	32,39±2,05	18,1±0,48
МФТП + леводопа	6,4±0,19	17,38±1,98	33,08±0,68	18,51±0,75
Диол	6,34±0,21	19,7±1,96	32,4±1,25	18,29±0,38
Леводопа	6,22±1,15	21,23±1,26	31,43±0,75	18,29±0,37

Таблица 3.18 - Влияние длительного введения диола на показатели лейкоцитарной формулы крови.

Группа	Эозинофильные нейтрофилы	Сегментоядерные нейтрофилы	Моноциты	Лимфоциты
Контроль	1,15±0,33	17,34±2,34	7,50±1,50	75,84±1,17
МФТП	0,83±0,50	16,84±1,17	8,50±0,50	75,00±1,33
МФТП + диол	1,17±0,50	13,35±1,26	8,67±0,00	77,84±0,84
МФТП + леводопа	1,16±0,33	13,50±1,50	7,65±0,27	73,67±1,34
Диол	1,17±0,50	13,67±0,95	6,50±0,50	74,33±1,53
Леводопа	1,17±0,17	14,34±1,34	7,50±0,17	76,33±2,67

При исследовании биохимических показателей крови, для определения воздействия длительного введения диола на функции печени, было обнаружено достоверное, по сравнению с контрольной группой, повышение

уровня щелочной фосфатазы у животных, которое по литературным данным является физиологической нормой (Даренская Н.Г. и др., 2004). Уровень других показателей (АЛТ, АСТ, МДА и общий белок) достоверно не отличался от таковых у контрольных животных.

Таблица 3.19 - Влияние длительного введения диола на биохимические показатели крови.

Группа	ЩФ, МЕ/л	АЛТ, МЕ/л	АСТ, МЕ/л	МДА, мкмоль/л	Общий белок, г/л
Контроль	774,36 ±84,72	103,27 ±4,18	314,55 ±28,02	2,39 ±0,14	73,02 ±6,02
МФТП 40 мг/кг	1281,64 ±161,34 *	102,46 ±5,2	272,27 ±17,7	2,08 ±0,33	69,67 ±4,82
МФТП + диола	1080,18 ± 65,34 *	98,27 ± 7,1	249,55 ± 10,5	2,06 ± 1,12	88,97 ±0,40
Диол	1015,25 ±78,97 *	112,5 ±4,27	221,5 ± 11,26	1,6 ±0,09	83,59 ±10,79
МФТП + L-ДОФА	942,56 ±57,67	98,67 ±3,81	189,67 ±12,32	2,0 ±0,12	87,62 ±7,79
L-ДОФА	1221,33 ±76,87 *	76,0 ±2,02	197,67 ±10,86	2,4 ±0,35	85,63 ±8,32

Примечание: * $p > 0,05$; по сравнению с контрольной группой

При гистологическом исследовании сердца, печени и почек животных, которые получали ежедневно диол в дозе 20 мг/кг в течение 30 дней, отклонений в строении органов и тканей обнаружено не было.

По результатам экспериментов можно заключить, что диол не оказывает токсического действия на жизненно важные органы и системы, что дает возможность предположить наличие минимальных побочных эффектов, присущих исследуемому агенту.

Таким образом, нами было впервые продемонстрировано, что внутрижелудочное введение диола в дозе 20 мг/кг эффективно устраняет

проявления экспериментального паркинсонизма во всех основных моделях болезни Паркинсона *in vivo*, что делает перспективным дальнейшее исследование этого соединения в качестве противопаркинсонического средства.

3.11. Анальгетическая активность диола.

Известно, что болезнь Паркинсона и паркинсонический синдром сопровождается болевыми ощущениями, связанными с ригидностью и гипокинезией в мышцах, развивающимися в течении болезни (Литвиненко И.В. и др., 2008). Учитывая литературные данные об обезболивающих свойствах, присущих многим монотерпеноидам, было решено провести исследования по выявлению анальгетической активности диола.

Анальгетическая активность была изучена на модели химического болевого раздражения – «уксусные корчи» (УК) и моделях термического болевого раздражения – «горячая пластина» (ГП).

В тесте "уксусные корчи" инъекция уксусной кислоты вызывает воспалительный ответ в брюшной полости с последующим раздражением брюшной полости (Koster R. et al., 1959; Singh S. et al., 1995) и активацией ноцицепторов (Collier H.O. et al., 1968), что провоцирует реакцию животных с характерным растягивающим поведением, которое называется корчей. Модель "уксусные корчи" является неселективной антиноцицептивной моделью, поскольку уксусная кислота действует косвенно, вызывая высвобождение эндогенных медиаторов, которые стимулируют ноцицептивные нейроны, чувствительные к нестероидным противовоспалительным препаратам, наркотическим анальгетикам и другим веществам, обладающим активностью в отношении ЦНС (Bighetti E.J.B. et al., 2000).

Тест "горячая пластина" считается чувствительным только для опиатов, являющихся чистыми агонистами опиатных рецепторов (Farre A.J. et al.,

1989). Так, для подавления термических болевых реакций необходимо вовлечение μ -рецепторов, в тесте "отдергивание хвоста" анальгетический ответ опосредован через δ -рецепторы, а блокада реакции на химическое раздражение брюшины хотя и может опосредоваться всеми подтипами опиоидных рецепторов, наибольшую активность в этих тестах проявляют агонисты κ -рецепторов (Сергеев П.В., Шимановский Р.Л., 1987).

Исследование анальгетической активности диола показало, что данный агент в дозе 10 мг/кг проявил селективную анальгетическую активность только в тесте на висцеральную боль, достоверно уменьшая количество укусных корчей, вызванных внутрибрюшинным введением уксусной кислоты (табл. 3.20). Однако стоит отметить тенденцию к усилению ноцицепции в моделях термического болевого раздражения.

Таблица 3.20. - Анальгетическая активность диола в дозе 10 мг/кг.

Горячая пластина (время, сек.)		Укусные корчи (кол-во)	
Контроль	Диол	Контроль	Диол
21,37 \pm 1,15	15,75 \pm 2,75	12,75 \pm 0,65	8,25 \pm 1,33**

Примечание: ** $p < 0,01$ относительно контроля

Данная активность сохраняется и при снижении дозы исследуемого агента до 1 мг/кг (табл. 3.21). Способность исследуемого агента подавлять химическую болевую реакцию позволяет предположить его связь с опиоидными рецепторами κ -подтипа. И в то же время заслуживает внимания его эффект гиперальгезии в тесте ГП и, что, вероятно, показывает способность его вызывать сенситизацию ноцицептивных афферентов к повреждающим механическим стимулам.

Таблица 3.21. - Анальгетическая активность диола в дозе 1 мг/кг

Горячая пластина (время, сек.)		Укусные корчи (кол-во)	
Контроль	Диол	Контроль	Диол
20,5 ± 2,7	16,4 ± 2,0	9,0 ± 0,9	5,3 ± 1,3*

Примечание: * $p < 0,05$ относительно контроля

Таким образом, диол обладает мультитаргетными свойствами и помимо противопаркинсонических свойств обладает анальгетической активностью, что позволит значительно уменьшить сопутствующую симптоматику заболевания у людей, страдающих БП или паркинсоническим синдромом.

3.12. Влияние функциональных групп на проявление противопаркинсонической активности диолом.

Как было установлено ранее, абсолютная конфигурация оказывает решающее влияние на проявление диолом противопаркинсонической активности. В структурной формуле диола содержится две двойные связи и две гидроксигруппы. Следующим шагом в изучении связи структура-активность является исследование влияния четырех функциональных групп, содержащихся в молекуле диола (две гидроксигруппы и две двойные связи), на проявление им противопаркинсонической активности. Были синтезированы следующие соединения **14-17**, у которых отсутствует одна из функциональных групп (рис. 3.12), и изучено их противопаркинсоническое действие при пероральном введении в дозе 20 мг/кг на модели паркинсонического синдрома, вызванного четырехкратным введением нейротоксина МФТП. Оценку противопаркинсонической активности

проводили посредством измерения параметров двигательной исследовательской активности в установке Tru Scan.

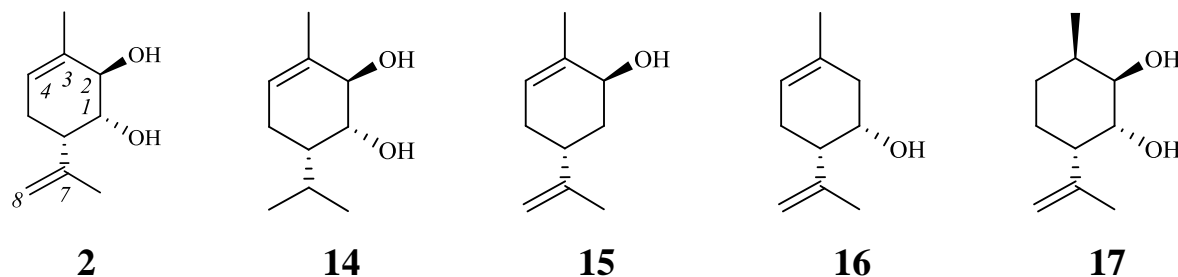


Рисунок 3.12 - Соединения **2**, **14-17**

Результаты эксперимента (табл. 3.22) показали, что удаление 7,8-двойной связи при переходе к соединению **14**, а также удаление гидроксигруппы в первом положении при переходе к карвеолу **15** привело к полной потере соединением **15** способности проявлять противопаркинсоническую активность. Удаление гидроксигруппы во втором положении (при переходе к соединению **16**) и 3,4-двойной связи (при переходе к соединению **17**) привело к исчезновению влияния исследуемых агентов (**16** и **17**) на проявления олигокинезии, вызванной введением нейротоксина МФТП, но оказало положительное влияние на исследовательскую активность животных (табл. 3.22), достоверно увеличивая количество исследуемых отверстий и вертикальных стоек, а также времени исследования (до таковых значений контрольной группы).

Таким образом, наличие в структурной формуле диола всех четырех функциональных групп (две гидроксигруппы и две двойные связи) имеет решающее значение для проявления им противопаркинсонической активности.

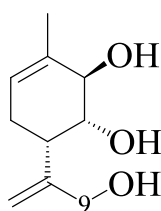
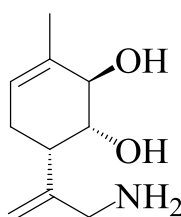
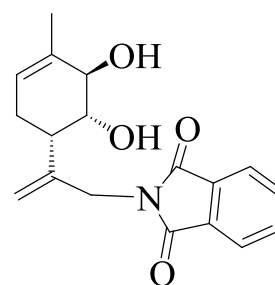
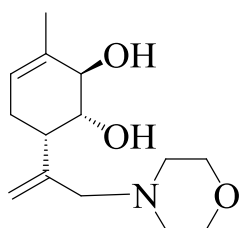
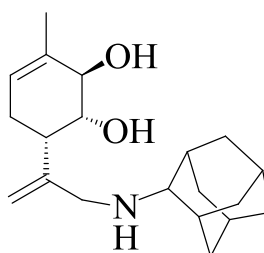
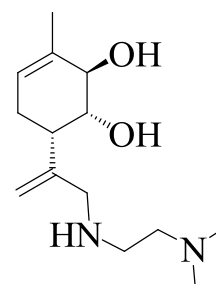
Таблица 3.20 - Изучение противопаркинсонической активности соединений **14-17**.

Показатель Агент	Неподв. момент (сек)	Время активности (сек)	Дистанция движения (см)	Скорость движения (см/сек)	Кол-во исслед. отверстий	Кол-во верт. стоек	Время исслед-ой акт-и (сек)
Контроль	43,4±2,1	76,6±2,1	397.6±13.2	3.3±0.1	11.4±1.5	15.0±1.6	4.6±0.6
МФТП	55,4±4,2**	69,6±4,6	299.1±28.6**	2.5±0.2**	4.5±0.5**	7.3±1.6**	2.1±0.4**
МФТП + 14	53,5±2,4	66,5±2,4	309.0±17.1	2.5±0.1	5.1±0.6	12.0±1.5	2.7±0.3
МФТП + 15	53,2±2,6	66,8±3,6	313.1±2.4	2.6±0.2	6.1±1.0	7.0±2.4	2.6±0.5
МФТП + 16	49,6±2,3	72,8±4,3	351.3±24.6	2.8±0.2	9.3±1.2##	14.6±1.6#	4.5±0.6#
МФТП + 17	52,0±2,4	68,0±2,4	308.0±17.2	2.5±0.1	8.6±1.0##	12.1±0.9#	5.1±0.6##

Примечание: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ по сравнению с контролем; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ по сравнению с группой МФТП.

3.13. Исследование противопаркинсонической активности производных диола

Как было показано в предыдущем исследовании, для проявления противопаркинсонической активности химическая структура диола должна содержать две гидроксигруппы и две двойные связи. Поэтому было принято решение синтезировать ряд производных диола (**18-26**), модифицируя С-9 положение, вводя различные заместители (рис. 3.13) и не внося изменения в основную молекулу, оставляя все четыре функциональные группы (две двойные связи и две гидроксигруппы), важные для проявления диолом противопаркинсонической активности. Противопаркинсоническую активность новых производных при внутрижелудочном введении в дозе 20 мг/кг оценивали на модели Паркинсонического синдрома, индуцированного четырехкратным введением нейротоксина МФТП самцам мышей линии C57Bl/6. Оценку противопаркинсонической активности проводили посредством измерения параметров двигательной-исследовательской активности в установке Tru Scan.

**18****19****20****21****22****23**

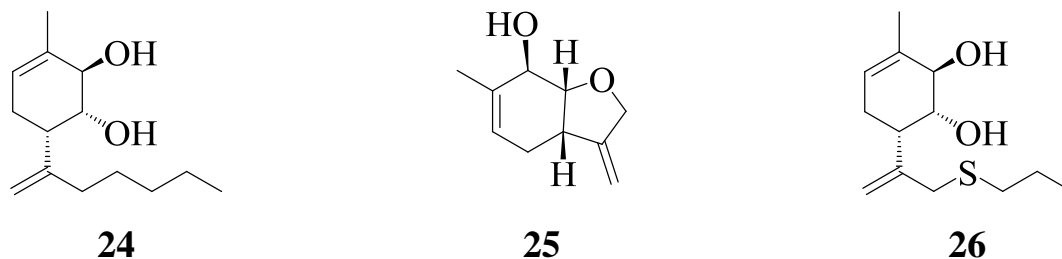


Рисунок 3.13 - Соединения **18-26** (производные диола)

Введение гидроксигруппы при переходе к триолу **18** привело к полному исчезновению противопаркинсонической активности (табл. 3.24). Переход к фталамиду **20** привел к усилению развития олигокинезии у животных и достоверному угнетению исследовательской реакции, а именно уменьшению количества исследованных отверстий (табл. 3.23). Введение аминогруппы при переходе к соединению **19** привело к исчезновению противопаркинсонической активности и еще большему уменьшению времени исследовательской реакции (табл. 3.23). Введение в молекулу морфолинового заместителя при переходе к соединению **21** привело к проявлению тенденции к усилению развития олигокинезии у животных, а также достоверному угнетению исследовательской реакции и уменьшению количества исследованных отверстий (табл. 3.23). Производное 2-адамантиламина - соединение **22** оказало достоверный угнетающий эффект на все параметры двигательной активности животных, усиливая токсическое действие нейротоксина МФТП (табл. 3.23). Другое азотсодержащее соединение **23** (производное 1,1-диметилэтилендиамин) достоверно, по сравнению с группой МФТП, увеличило скорость движения и дистанцию, пройденную животными, но не оказало влияния на исследовательскую реакцию (табл. 3.25). Введение бутилового заместителя при переходе к соединению **24** привело к положительному достоверному по сравнению с группой МФТП влиянию на параметры двигательной активности животных, увеличивая скорость движения и дистанцию, пройденную животными, а

также усилило вертикальную активность, но не оказало влияния на количество исследуемых животными отверстий (табл. 3.23). Гетероциклический аналог триола **18** - соединение **25** не оказало влияния на параметры двигательной активности, но угнетало исследовательскую реакцию животных, уменьшая количество исследованных отверстий (табл. 3.23). Наилучшие результаты были получены при использовании серосодержащего производного пропантиола **26**, которое достоверно восстанавливало параметры двигательной-исследовательской активности животных до уровня таковых контрольной группы, тем самым проявляя выраженную противопаркинсоническую активность (табл. 3.25).

Исследование противопаркинсонической активности производных диола показало, что введение заместителей, содержащих гетероатомы в С-9? положении, привело к полной потере проявления полученными соединениями антипаркинсонической активности, или частичной для соединений **18** и **23**. А введение в молекулу диола алифатического или тиаалифатического заместителя позволило сохранить проявление исследуемыми соединениями выраженных противопаркинсонических свойств.

Таблица 3.23 - Противопаркинсоническая активность производных диола (19-22, 24, 25) при 4-кратном введении нейротоксина МФТП

Группы	Неподвиж. момент (сек)	Время активности (сек)	Дистанция движения (см)	Скорость движения (см/сек)	Количество исслед. отверстий	Кол-во верт. стоек	Время исслед-ой активности (сек)
Контроль	47,6±2,6	72,4±2,6	372,1±27,2	3,1±0,2	10,5 ± 0,8	4,1 ± 0,9	6,5 ± 0,8
МФТП	63,8±3,2**	56,2±3,2**	241,1±20,7**	2,0±0,2**	8,1 ± 1	4,8 ± 0,9	5,6 ± 1
МФТП + 19	66,5±7,1	53,5±7,1	248,6±36,8	2,0±0,3	5,5 ± 1**	5 ± 1,2	3,1 ± 0,6 **#
МФТП + 20	61,7±4,4	58,3±4,4	280,0±32,4	2,3±0,3	8,3 ± 1,3	6,6 ± 2	5,8 ± 0,9
МФТП + 21	71,5±6,8	48,5±6,7	215,3±34,5	1,7±0,3	5,8 ± 1,1**	3,3 ± 1,3	3,8 ± 0,8
МФТП + 22	85,2±9,0#	34,8±9,0#	149,7±42,8**	1,2±0,4	5,5 ± 1,5 **	3 ± 1,2	3,2 ± 0,8
МФТП + 24	56,8±2,7	63,2±2,6	335,2±29,5#	2,7±0,3#	6,4 ± 1,7 *	10,1 ± 2,6*	3 ± 0,7 **
МФТП + 25	73,4±6,5	46,6±6,5	214,0±38,5	1,7±0,3	4,8 ± 1,1*** #	4,5 ± 1,7	3 ± 0,8 ***

Примечание: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ по сравнению с контролем; # $P < 0.05$ по сравнению с группой МФТП.

Таблица 3.24 - Противопаркинсоническая активность производных диола (18) при 4-кратном введении нейротоксина МФТП

Группы	Неподвиж. момент (сек)	Время двигательной активности (сек)	Дистанция движения (см)	Скорость движения (см/сек)	Количество исслед. отверстий	Кол-во верт. стоек	Время исслед-ой активности (сек)
Контроль	51,9±2,3	68,1±2,3	337,5±16,5	2,8±0,1	7 ± 1	4,8 ± 0,8	4,5 ± 1,2
МФТП	93,9±7,9***	26,1±8,0***	106,0±37,0***	0,8±0,3***	1,3 ± 0,5**	1,1 ± 1,8 ***	1,1 ± 0,6*
МФТП + 18	80,0±1,2	37,2±10,7	182,1±55,2	1,5±0,5	5,8 ± 1,9 *	2 ± 0,5 *	2,9 ± 0,8

Примечание: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ по сравнению с контрольной группой.

Таблица 3.25 - Противопаркинсоническая активность производных диола (**23**, **26**) при 4-кратном введении нейротоксина МФТП

Группы	Неподвиж. момент (сек)	Время активности (сек)	Дистанция движения (см)	Скорость движения (см/сек)	Количество исслед. отверстий	Кол-во верт. стоек	Время исслед-ой активности (сек)
Контроль	53.1±5.1	66.9±5.1	343.7±43.7	2.8±0.4	7 ± 1.9	6 ± 1	2.7 ± 0.7
МФТП	82.7±6.2**	37.3±6.2**	145.0±26.8**	1.2±0.2**	1.4 ± 0.4 *	0.6 ± 0.4 ***	1 ± 0.3 *
МФТП + 23	68.8±3.3	51.2±3.3	225.0±20.9#	1.8±0.2#	2.8 ± 0.7 *	2.2 ± 0.7 **	1.1 ± 0.3*
МФТП + 26	58.6±3.5##	61.4±3.5##	317.6±26.6###	2.6±0.2###	4.5 ± 0.3 ###	8.3 ± 1.5 ###	1.9 ± 0.2 #

Примечание: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ по сравнению с контролем; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ по сравнению с группой МФТП.

3.14. Метаболиты диола (эпоксиды).

Одной из важных задач доклинических испытаний является изучение метаболизма и исследование активности найденных метаболитов. Было обнаружено несколько метаболитов диола, которые, возможно, проявляют противопаркинсоническую активность. Один из метаболитов был ранее нами получен - кетоспирт. Противопаркинсоническая активность была изучена для двух его стереоизомеров (**соединения 31-32**). Также были синтезированы 4 возможных варианта эпоксидов для исследования их противопаркинсонической активности и определения, обладает ли какое-нибудь из синтезированных соединений выраженной противопаркинсонической активностью.

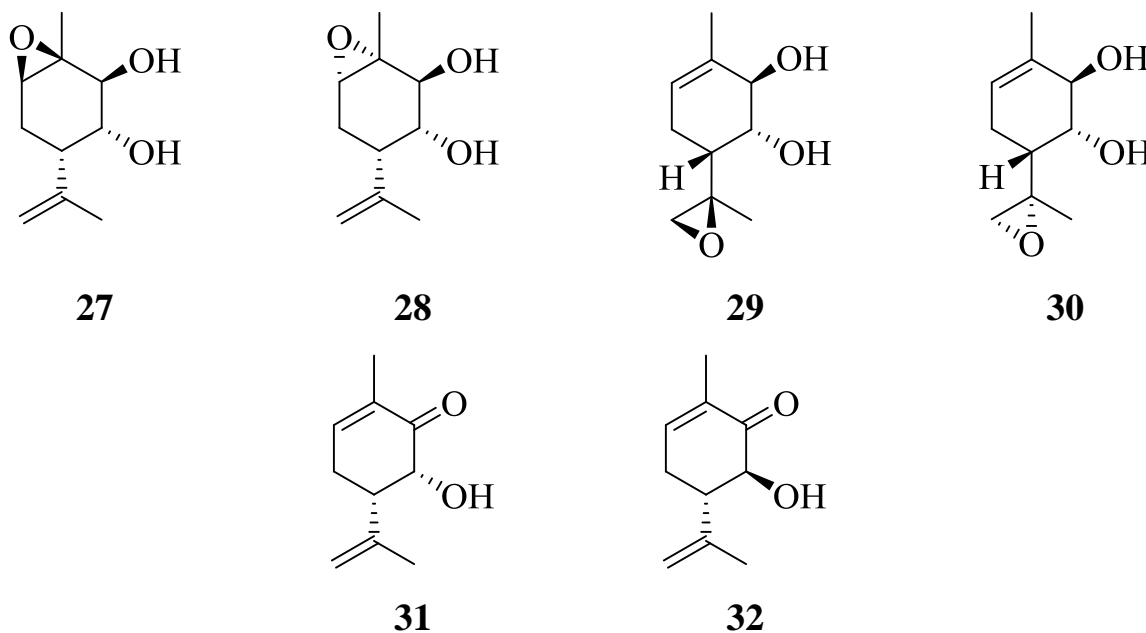


Рисунок 3.14 - Соединения **27-32** (метаболиты диола)

Противопаркинсоническую активность оценивали на модели паркинсонического синдрома, индуцированного системным введением нейротоксина МФТП самцам мышей линии C57Bl/6. Исследуемые эпоксиды вводили в дозе 20 мг/кг *per os*.

Введение транс-эпоксида **27**, являющегося метаболитом диола, привело к практически полному восстановлению (до уровня контрольной группы) показателей двигательной активности животных, а также к достоверному увеличению количества вертикальных стоек (табл. 3.26).

В отличие от транс-эпоксида **27** цис-изомер **28** не оказал влияния на проявления олигокинезии, вызванной введением МФТП (табл. 3.26), и оказал угнетающее действие на исследовательскую активность животных, снижая количество исследованных отверстий и уменьшая время их исследования (табл. 3.26).

Эпоксид **29** не оказал влияния ни на проявления олигокинезии, вызванной введением нейротоксина МФТП, ни на исследовательскую активность животных (табл. 3.27).

Изомерный эпоксид **30** оказал положительное влияние на проявления олигокинезии, вызванной введением МФТП, достоверно увеличивая показатели как двигательной, так и исследовательской активности животных (табл. 3.27).

Таблица 3.26 - Противопаркинсоническая активность эпоксидов диола (27, 28) при 4-кратном введении нейротоксина МФТП

Группы	Неподвиж. момент (сек)	Время активности (сек)	Дистанция движения (см)	Скорость движения (см/сек)	Количество исслед. отверстий	Кол-во верт. стоек	Время исслед-ой активности (сек)
Контроль	47,6±2,6	72,4±2,6	372,1±27,2	3,1±0,2	10,5±0,8	4,1±0,9	6,5±0,8
МФТП	63,8±3,2 *	56,2±3,2 *	341,1±20,7 *	2±0,2 *	8,1±1	4,8±0,9	5,6±1
МФТП + 27	50,1±1,9#	69,9±1,9 ##	354,7±18,2 ##	2,9±0,2 ##	7,9±1	11,5±1,6 *** ##	4,5±0,5
МФТП + 28	62,4±7 *	57,6±7 *	270,3±43,6	2,2±0,4	4,6±1,5 **	4,8±1,5	2,3±0,7 **#

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0.001$ по сравнению с контрольной группой; # $P < 0,05$; ## $P < 0,01$ по сравнению с группой МФТП

Таблица 3.27 - Противопаркинсоническая активность эпоксидов диола (29, 30) при 4-кратном введении нейротоксина МФТП

Группы	Неподвиж. момент (сек)	Время двигательной активности (сек)	Дистанция движения (см)	Скорость движения (см/сек)	Количество исслед. отверстий	Кол-во верт. стоек	Время исслед-ой активности (сек)
Контроль	45,7±3,3	74,3±3,3	445,6±24,7	3,7±0,2	7,3±1,5	14,8±1,8	4±0,9
МФТП	60,1±7,9	59,9±7,9	288,1±41**	2,3±0,3 **	3,1±0,6 *	9,3±1,8 *	1,7±0,4*
МФТП + 29	51±3,1	69±3,1	374±33,7	3,1±0,3	6,8±0,8 ##	8,4±1,7 *	3,5±0,5 #
МФТП + 30	44,6±2,2	73,4±2,2	422,2±20,8 ##	3,5±0,2 ##	8,4±1,1 ##	16,5±2,2 #	4,4±0,5 ##

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$ по сравнению с контрольной группой; # $P < 0,05$; ## $P < 0,01$ по сравнению с группой МФТП

Исследование противопаркинсонической активности изомеров **31** и **32** предположительного метаболита диола кетоспирта показало, что введение обоих изомеров приводит к усугублению двигательных нарушений у животных в тесте "открытое поле" (табл. 3.28) в условиях экспериментального паркинсонизма, вызванного однократным введением нейротоксина МФТП. Поэтому в последующих исследованиях использовать данные соединения (**31, 32**) посчитали нецелесообразным.

Таблица 3.28 - Противопаркинсоническая активность метаболитов диола (31, 32) при однократном введении нейротоксина МФТП

Группы	Неподвиж. момент (сек)	Время активности (сек)	Дистанция движения (см)	Скорость движения (см/сек)	Количество исслед. отверстий	Кол-во верт. стоек	Время исслед-ой активности (сек)
Контроль	61,9 ± 4,5	58,1 ± 4,5	285,8 ± 32,8	2,3 ± 0,3	3,6 ± 1,1	13,6 ± 1,7	2,0 ± 0,5
МФТП	81,3 ± 4,7**	38,7 ± 4,7**	163,1 ± 24,1 **	1,3 ± 0,2 **	2,8 ± 0,7	4,1 ± 1,1 ***	2,7 ± 1,3 ***
МФТП + 31	96,5 ± 2,3 *** ##	23,3 ± 2,7 *** #	88,8 ± 2,6 *** #	0,7 ± 0,1 *** #	0 ± 0 ** ##	1,9 ± 0,7 ***	0 ± 0 ** ##
Контроль	49,8 ± 3,6	70,2 ± 3,6	361,6 ± 32,4	2,9 ± 0,3	7,8 ± 1,1	15,0 ± 3,9	3,2 ± 0,4
МФТП	73,2 ± 4,4**	46,8 ± 4,4**	211,8 ± 29,1**	1,7 ± 0,3**	6,3 ± 1,8	11,3 ± 3,8	3,5 ± 0,7
МФТП + 32	98,5 ± 10,1 * ##	21,5 ± 10,1 * ##	84,8 ± 42,4 * ##	0,7 ± 0,3 ** ##	3 ± 1,7	1,0 ± 0,8* ##	5,8 ± 5,1

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; # $P < 0,05$; ## $P < 0,01$ по сравнению с группой МФТП

В результате проведенных экспериментов обнаружили, что два из четырех эпоксидов-метаболитов диола - соединения **27** и **30** проявляют выраженную противопаркинсоническую активность в модели паркинсонического синдрома, вызванного введением нейротоксина МФТП. Один из них (соединение **27**) является продуктом эпексидации 3,4-двойной связи в молекуле диола, а соединение **30** - это 7,8-эпоксид диола. Конфигурация моноэпоксидов также играет решающую роль в проявлении ими противопаркинсонической активности.

Снижение дозы моноэпоксида **27** до 5 мг/кг привело к незначительному снижению способности устранять проявления олигокинезии, вызванной введением нейротоксина МФТП, но в то же время статистически достоверному улучшению показателей двигательной-исследовательской активности животных по сравнению с группой животных, получавших инъекции нейротоксина МФТП (табл. 3.29).

Таблица 3.29 - Противопаркинсоническая активность моноэпоксида диола **27** в дозе 5 мг/кг при 4-кратном введении нейротоксина МФТП

Группы	Неподвиж. момент (сек)	Время активности (сек)	Дистанция движения (см)	Скорость движения (см/сек)	Количество исслед. отверстий	Кол-во верт. стоек	Время исслед-ой активности (сек)
Контроль	35,3 ± 2,1	84,6 ± 2,1	527,8 ± 31,6	4,3 ± 0,3	7,0 ± 0,8	12,4 ± 1,4	11,9 ± 1,6
МФТП	93,6 ± 8,1 ***	26,4 ± 8,1 ***	108,7 ± 41,1 ***	0,9 ± 0,34 ***	2,2 ± 1,1 **	0,5 ± 0,4 ***	0,4 ± 0,3 ***
МФТП + 27	65,9 ± 6,9 *** #	54,1 ± 6,9 *** #	240,8 ± 36,9 *** #	2,0 ± 0,31 *** #	4,8 ± 1,2	3,23 ± 1,1 *** #	3,2 ± 1,1 *** #

Примечание: ** $P < 0,01$; *** $P < 0.001$ по сравнению с контрольной группой; # $P < 0,05$ по сравнению с группой МФТП

Для соединения **27** была определена острая токсичность. Введение исследуемого агента в дозе 1000мг/кг не привело к гибели животных и не оказало влияния на физическое и психоэмоциональное состояние животных, вес тела и количество потребляемой пищи и воды. LD50 для эпоксида **27** составляет более 1000мг/кг.

Способность эпоксида **27** проникать через ГЭБ была определена путем анализа содержания данного соединения в плазме крови и головном мозге крыс через 1,5ч после внутрижелудочного введения соединения **27** в дозе 10 мг/кг. Соединение **27** было обнаружено как в плазме крови (5,3мкг/мл), так и в гомогенате головного мозга крыс (3,5 мкг/г). Эти данные показывают, что моноэпоксид диола **27** циркулирует в кровотоке продолжительное время и легко проникает через гемато-энцефалический барьер. Интересно отметить, что ранее нами было обнаружено небольшое количество моноэпоксида в плазме крови животных и после введения диола, что указывает на то, что соединение **27** действительно является метаболитом диола.

Поскольку проявление диагностируемых симптомов болезни Паркинсона вызываются прогрессирующей деградацией дофаминергических нейронов головного мозга, то применение препаратов, защищающих и/или восстанавливающих эти нейроны, позволит значительно улучшить течение болезни Паркинсона (Douaron, G. L. et al, 2016; ; Herrera-Arozamena, C. et al, 2016; Sidorova, Y. A. et al, 2019). В Лаборатории молекулярной нейронауки Института биотехнологии города Хельсинки были исследованы свойства моноэпоксида **27**, оказывающие влияние на выживаемость культивируемых эмбриональных дофаминовых нейронов. Эпоксид **27** способствовал выживанию TH-позитивных нейронов в зависимости от дозы его применения. Так в лунках, обработанных эпоксидом диола **23** в дозах 0,1 мкМ и 1 мкМ, количество TH-позитивных нейронов было в 2,1 и в 2,3 раза больше, чем в контрольных.

Также было изучено влияние соединения **27** на выживаемость TH-позитивных нейронов в культурах клеток среднего мозга, обработанных 6-гидроксидопамином (6-OHDA) - токсином, вызывающим селективную гибель дофаминергических нейронов (Sidorova, Y. A. et al, 2019). Результаты исследования показали, что исследуемое соединение **23** защищает культивируемые клетки дофаминергические нейроны от 6-OHDA-индуцированной дегенерации. Кроме того, было исследовано влияние эпоксида диола **27** на выживание ГАМК-продуцирующих нейронов, содержащихся в значительном количестве в структурах среднего мозга (Gaven F. et al, 2014), и показано, что эпоксид диола **27** не оказал влияния на выживаемость данных нейронов в экспериментах *in vitro* (Sidorova, Y. A. et al, 2019).

Полученные данные показывают, что свойства эпоксида диола **27** увеличивать выживаемость клеток в условиях *in vitro* проявляется в отношении клеток нейронального происхождения, в частности, дофаминовых нейронов.

Учитывая положительное влияние соединения **27** на выживаемость дофаминовых нейронов в экспериментах *in vitro*, было решено оценить способность соединения **27** к ресторации в отношении дофаминовых нейронов черной субстанции головного мозга в экспериментах *in vivo* с использованием МФТП-индуцированной модели паркинсонического синдрома. Тела нигростриальных дофаминовых нейронов располагаются в области мозга, известной как черная субстанция - *nigra pars compacta*, в то время как их аксоны проецируются на стриатум. В ходе совместного с Лабораторией молекулярной нейронауки Института биотехнологии города Хельсинки эксперимента была определена плотность TH-положительных аксонов в стриатуме и количество TH-позитивных клеток в черной субстанции. После индуцирования паркинсонического синдрома парентеральным введением нейротоксина МФТП (20 мг/кг, *i.p.*, 4-кратно)

животным в качестве лечения вводили эпоксид диола **27** в дозах 5 и 20 мг/кг per os через 24 часа после последней инъекции нейротоксина МФТП в течение 3 недель (ежедневно 5 дней в неделю). Через 30 дней после индуцирования паркинсонического синдрома плотность TH-позитивных волокон в полосатом теле головного мозга снизилась в 2 раза по сравнению с контролем. У животных, получавших в качестве лечения соединение **27** в дозах 5 и 20 мг/кг, достоверно увеличилась плотность TH-положительных волокон по сравнению с животными с индуцированным паркинсонизмом. В то же время введение эпоксида диола **27** не оказало влияния на количество TH-положительных нейронов в черной субстанции.

Таким образом, исследуемое соединение стимулирует рост дофаминовых нейронов, увеличивая количество дофаминовых синапсов в стриатуме, что, вероятно, повысит содержание дофамина в полосатом теле и будет способствовать облегчению симптомов болезни Паркинсона.

3.15. Анальгетическая активность новых производных монотерпенового ряда

Ранее было показано, что обнаруженное нами новое соединение - диол помимо противопаркинсонической активности проявляет еще и анальгетические свойства в тесте химического раздражения "уксусные корчи". Опираясь на литературные данные о присущей многим эфирным маслам и входящим в их состав монотерпеноидам анальгетической активности (Tchimene M.K. et al, 2013; Premkumar L. 2014), было принято решение о синтезе ряда новых монотерпеноидов исходя из природных соединений для оценки их анальгетической активности. Среди полученных соединений был проведен скрининг и выявлены соединения, обладающие выраженной анальгетической активностью.

Первыми были синтезированы гетероциклические соединения с различными типами остовов путем взаимодействия (1*R*,2*R*,6*S*)-3-метил-6-

(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-3-ен-1,2-диола и эпоксид вербенола с ароматическими альдегидами, содержащими три метокси-группы (рис. 3.15). Для полученных соединений (**33-40**) были проведены скрининговые исследования с целью обнаружения анальгетической активности в тестах "уксусные корчи" и "горячая пластинка".

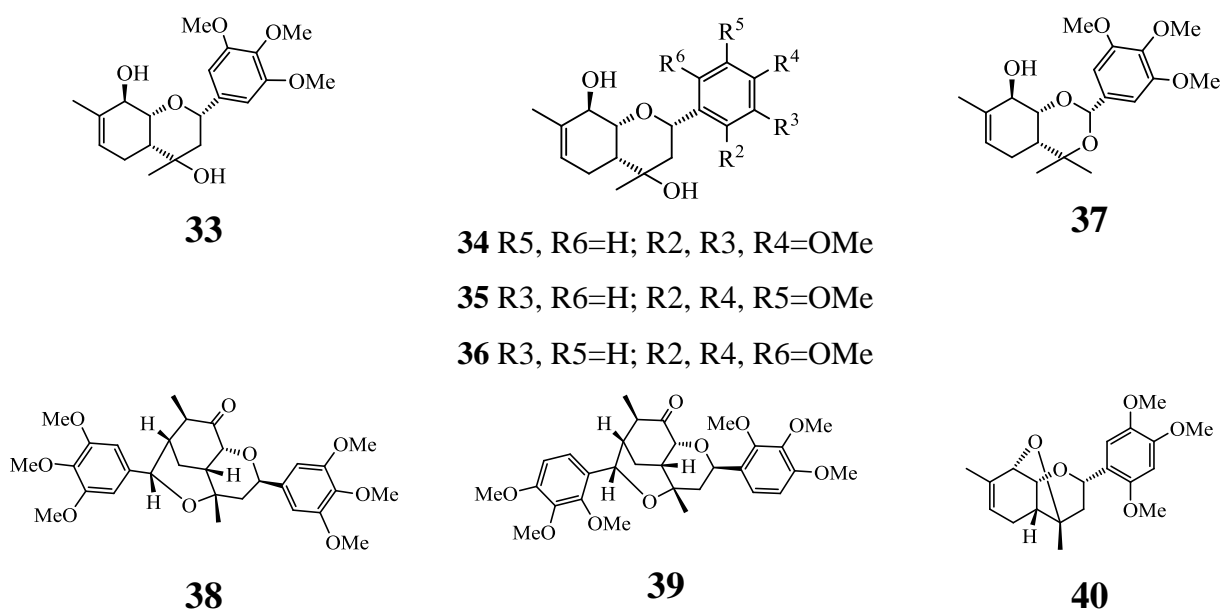


Рисунок 3.15. Соединения **33-40**

Результаты скрининга показали, что соединения **34**, **38** и **40** в дозе 10 мг/кг проявляют выраженную анальгетическую активность в тесте «уксусные корчи», значительно уменьшая количество корчей, вызванных введением уксусной кислоты (табл. 3.30). Наибольшую эффективность в этом тесте проявило соединение **34**, введение которого привело к тому, что у 2/3 животных в группе корчи не развивались (в контрольной группе корчи наблюдались у всех мышей). В то же время, достоверной анальгетической активностью в тесте «горячая пластинка» из исследованных соединений обладает только трициклическое соединение **38** (табл. 3.30).

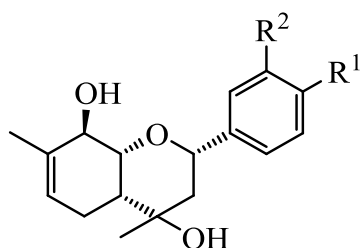
Таблица 3.30. - Анальгетическая активность соединений **33-40**

Соединение	Уксусные корчи		Горячая пластинка	
	М ± m (%)	Контроль	М ± m (%)	Контроль
33	8,5 ± 1,9	10,1 ± 0,7	13,1 ± 1,2	12,3 ± 1,7
34	2,8 ± 1,6 (74)***	10,9 ± 0,9	11,8 ± 1,2	10,5 ± 1,8
35	7,5 ± 1,5	10,1 ± 0,7	15,4 ± 1,2	12,3 ± 1,7
36	12,1 ± 1,0	13,9 ± 1,0	13,3 ± 2,4	11,9 ± 1,3
37	12,6 ± 1,3	14,4 ± 0,9	14,3 ± 1,0	12,3 ± 0,9
38	6,3 ± 1,6 (50)**	12,6 ± 1,3	14,6 ± 2,0	12,3 ± 0,9
39	7,8 ± 1,3	10,1 ± 0,7	13,4 ± 1,9	12,3 ± 1,7
40	3,8 ± 0,9 (65)***	10,9 ± 0,9	18,1 ± 1,9 (72)***	10,5 ± 1,8

Примечание: % = $(t_{\text{контроль}} - t_{\text{опыт}}) / t_{\text{контроль}} \cdot 100\%$; ** P < 0,01; *** P < 0,001 по сравнению с контролем

Интересно, что анальгетическая активность обнаружена у соединений разных структурных типов с различным расположением метокси-групп в ароматическом кольце, что подтверждает перспективность дальнейшего поиска новых анальгетиков среди соединений, сочетающих монотерпеновый и ароматический фрагменты.

Соединения следующего ряда были так же синтезированы на основе диола и сочетают в своей химической структуре *пара*-ментановый и ароматический фрагменты. Данные соединения, в отличие от первого ряда синтезированных соединений, имеют отличия только среди заместителей в ароматическом кольце, а гексагидро-2Н-хроменовый остов остается неизменным (рис. 3.16).



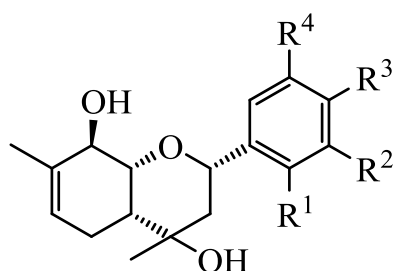
41 R1=R2=H

42 R1= OH; R2=H

43 R1= OMe; R2=H

44 R1= OH; R2=OMe

45 R1= OMe; R2=OH



46 R1=R4=H; R2=R3=OMe

47 R1=R4=H; R2=R3=OH

48 R1=OH; R2=R3=H; R4=OMe

49 R1=R4=H; R2=OMe; R3=OBu

50 R1=R4=H; R2=OMe; R3=ONhex

51 R1=H; R2=R4=OMe; R3=OH

52 R1=R2=R4=H; R3=SMe

Рисунок 3.16. Соединения **41-52**

Соединение **41**, имеющее фенильный заместитель, проявило выраженную анальгетическую активность в тесте "уксусные корчи", но не оказало достоверного влияния на латентное время нахождения животных на горячей пластине (табл. 3.31). Соединения **42** и **43**, содержащие 4-гидрокси- и 4-метокси-заместитель в ароматическом кольце соответственно, не проявили анальгетическую активность в обоих тестах (табл. 3.31). Изомеры **44** и **45**, имеющие одновременно и гидрокси-, и метокси-группу в ароматическом кольце проявили достоверный анальгетический эффект как в тесте химического, так и в тесте термического раздражения (табл. 3.31).

Замена гидрокси- на метокси-группу в соединениях **44** и **45** при переходе к соединению **46** привела к нивелированию достоверного анальгетического эффекта в обоих скрининговых тестах (табл. 3.31). Соединение **47**, имеющее две гидрокси-группы в ароматическом кольце, достоверно снизило количество корчей, вызванных введением уксусной кислоты, но не проявило анальгетического эффекта в тесте "горячая

пластинка" (табл. 3.31). Таким образом, необходимым условием для проявления выраженной анальгетической активности в обоих скрининговых тестах является наличие одновременно и гидрокси-, и метокси-группы в ароматическом кольце.

Перемещение гидрокси-группы из четвертого положения во второе при переходе от **44** к соединению **48** не оказало влияния на проявление выраженной анальгетической активности соединением **48** как в тесте "уксусные корчи", так и в тесте "горячая пластинка" (табл. 3.31).

Таблица 3.31 - Анальгетическая активность соединений **41-52**.

Соединение	Уксусные корчи		Горячая пластинка	
	Контроль	М ± m (%)	Контроль	М ± m (%)
41	10.4 ± 1.2	3.9 ± 0.8 (63)***	9.5 ± 1.2	7.8 ± 0.5
42	10.4 ± 1.2	9.8 ± 1.3	9.5 ± 1.2	10.6 ± 1.3
43	11.1 ± 0.6	9.9 ± 0.6	14.4 ± 1.7	13.0 ± 1.9
44	9.1 ± 0.7	5.7 ± 1.3 (37)**	19.3 ± 3.8	32.0 ± 1.8 (66)**
45	10.9 ± 0.9	4.0 ± 1.2 (63)***	10.5 ± 1.8	17.5 ± 1.9 (67)**
46	10.9 ± 0.9	7.5 ± 1.5	10.5 ± 1.8	13.5 ± 2.0
47	13.2 ± 0.6	7.6 ± 0.6 (42)***	12.9 ± 1.0	15.0 ± 1.5
48	15.6 ± 0.9	10.1 ± 0.8 (35)***	9.0 ± 0.9	13.5 ± 1.4 (50)**
49	11.8 ± 0.5	10.4 ± 0.5	16.1 ± 1.9	14.6 ± 0.8
50	13.9 ± 0.6	9.9 ± 0.6 (29)***	19.5 ± 2.2	20.3 ± 2.0
51	13.9 ± 1.0	11.4 ± 0.5 (18)**	11.9 ± 1.3	16.1 ± 2.4
52	15.6 ± 0.9	12.3 ± 0.6 (21)**	9.0 ± 0.9	12.6 ± 1.5

Примечание: % = $(t_{\text{контроль}} - t_{\text{опыт}}) / t_{\text{контроль}} \cdot 100\%$; ** P < 0,01; *** P < 0,001 по сравнению с контролем

Замена гидроксигруппы в соединении **44** на буюкси-заместитель (соединение **49**) привело к полному исчезновению проявления аналгетической активности соединением **49** в скрининговых тестах (табл. 3.31). Соединение **50** с гексуюкси-заместителем в аромокольце проявило достоверную аналгетическую активность только в тесте химического раздражения "укусные корчи" (табл. 3.31).

Добавление еще одной метокси-группы к соединению **44** при переходе к соединению **51** привело к снижению аналгетического эффекта в тесте "укусные корчи" и нивелированию аналгетической активности в тесте "горячая пластинка" (табл. 3.31).

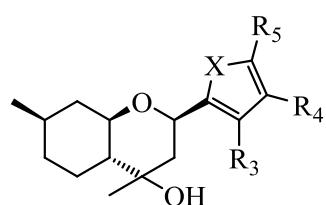
Серосодержащее соединение **52** достоверно уменьшало количество корчей, вызванных введением уксусной кислоты, но не оказало влияния на латентное время болевой реакции в тесте "горячая пластинка" (табл. 3.31).

Большая часть протестированных соединений с гексагидро-2Н-хроменовым остовом в дозе 10 мг/кг проявили достоверную аналгетическую активность в тесте "укусные корчи". Соединения **44**, **45**, **48**, содержащие метокси- и гидроксигруппы в различных положениях ароматического кольца, кроме того, достоверно увеличили время нахождения животных на горячей пластине, что делает их перспективными для дальнейших фармакологических исследований.

Следующим был синтезирован ряд аналогичных соединений, содержащих гетероароматические (фурановые и тиюфеновые) заместители, исходя из монотерпенойда изопулегола (рис. 3.17).

Исследование аналгетической активности новых соединений в тестах "укусные корчи" и "горячая пластинка", вводимых в дозе 10 мг/кг показало, что соединение **53**, полученное взаимодействием изопулегола с фурфуролом, не оказало влияния на количество корч в тесте "укусные корчи" и латентное время нахождения животных на горячей пластине (табл. 3.32). Не проявило аналгетическую активность и соединение **55**, имеющее метильный

заместитель в пятом положении (табл. 3.32). В то же время, замена метильной группы на нитро-группу при переходе к соединению **56** привела к достоверному снижению количества корчей, вызванных внутрибрюшинным введением уксусной кислоты, при этом эффективны оказались оба диастереомера (табл. 3.32).



53 X=O; R3=R4=R5=H

54 X=S; R3=R4=R5=H

55 X=O; R3=R4=H; R5=Me

56 X=O; R3=R4=H; R5=NO₂

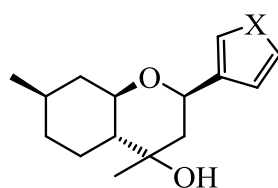
57 X=S; R3=R4=H; R5=Me

58 X=S; R3=Me; R4=R5=H

59 X=S; R3=R4=H; R5=Br

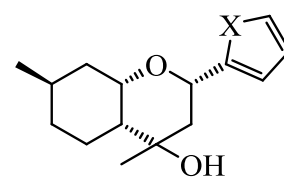
60 X=S; R3=R5=H; R4=Br

61 X=S; R3=R4=H; R5=NO₂



62 X=O

63 9b X=S



64 X=O

65 X=S

Рисунок 3.17. Соединения **53-65**.

Исследование анальгетической активности новых соединений в тестах "уксусные корчи" и "горячая пластинка", вводимых в дозе 10 мг/кг показало, что соединение **53**, полученное взаимодействием изопулегола с фурфуролом, не оказало влияния на количество корч в тесте "уксусные корчи" и латентное время нахождения животных на горячей пластине (табл. 3.32). Не проявило анальгетическую активность и соединение **55**, имеющее метильный заместитель в пятом положении (табл. 3.32). В то же время, замена метильной группы на нитро-группу при переходе к соединению **56** привела к достоверному снижению количества корчей, вызванных внутрибрюшинным

введением уксусной кислоты, при этом эффективны оказались оба диастереомера (табл. 3.32).

В отличие от соединения **53**, его серосодержащий аналог **54** проявил выраженную анальгетическую активность в обоих тестах, достоверно снижая количество корчей в тесте "уксусные корчи" и увеличивая латентное время нахождения животных на горячей пластине (табл. 3.32). Стоит отметить, что индивидуальный (4*R*)-**54** стереоизомер оказался менее эффективным, чем изначальная смесь (4*R*)- и (4*S*)-изомеров в соотношении 5:1 (**54**), и проявил достоверную анальгетическую активность только в тесте "уксусные корчи", показав лишь тенденцию к увеличению продолжительности латентного времени нахождения животных на горячей пластине (табл. 3.32).

Соединения **57** и **58**, содержащие метильную группу в пятом и третьем положении тиофенового кольца, соответственно, проявили достоверную анальгетическую активность только в тесте химического раздражения "уксусные корчи" (табл. 3.32). Достоверно снижал количество уксусных корчей (4*R*)-диастереомер 5-бром замещенного соединения **59**, в то время как (4*S*)-диастереомер не проявил анальгетическую активность ни в одном из скрининговых тестах (табл. 3.32). Соединение **60**, содержащее атом брома в четвертом положении ароматического кольца, а также серосодержащее соединение **61** оказали достоверное влияние на количество корчей, вызванных введением уксусной кислоты, снижая их количество, но не повлияли на латентное время нахождения мышей на горячей пластине (табл. 3.32).

Соединение **62**, как и его изомер по положению гетероатома в ароматическом кольце **53**, не проявило анальгетической активности в скрининговых тестах (табл. 3.32). Неожиданным оказался результат тестирования соединения **63**, являющегося изомером наиболее активного соединения **54** (табл. 3.32). Помимо того, что соединение **63** не проявило активности в тесте "уксусные корчи", введение его привело к достоверному

проявлению гиперальгезии в тесте "горячая пластинка" (табл. 3.32). Таким образом, оказалось, что изменение положения атома серы в ароматическом кольце соединения **54** привело к обращению фармакологического эффекта в тесте "горячая пластинка" и нивелированию проявления анальгетической активности в тесте "уксусные корчи" (табл. 3.32).

Таблица 3.32 - Анальгетическая активность соединений **53-65**.

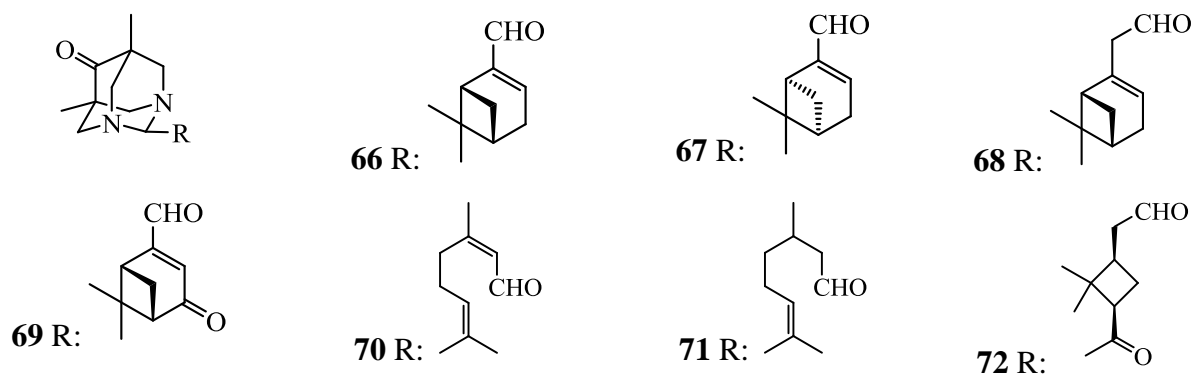
Соединение	Уксусные корчи		Горячая пластинка	
	Контроль	Mean \pm m (%)	Контроль	Mean \pm m (%)
53	11.1 \pm 0.6	9.8 \pm 1.3	14.4 \pm 1.7	19.9 \pm 2.5
54	9.6 \pm 0.9	4.3 \pm 1.1 (55)**	9.8 \pm 0.8	13.1 \pm 1.2 (34)*
(4 <i>R</i>)- 54	8.9 \pm 0.7	5.6 \pm 0.8 (37)*	11.5 \pm 1.1	15.1 \pm 2.0
55	9.8 \pm 0.5	8.1 \pm 1.2	13.3 \pm 1.4	16.0 \pm 2.2
(4 <i>S</i>)- 56	11.1 \pm 0.7	4.8 \pm 1.2 (57)***	12.1 \pm 1.3	15.1 \pm 1.2
(4 <i>R</i>)- 56	11.1 \pm 0.7	6.4 \pm 1.5 (42)*	12.1 \pm 1.3	17.9 \pm 2.3
57	10.9 \pm 0.5	6.6 \pm 0.5 (39)***	18.4 \pm 2.1	17.4 \pm 2.4
58	10.9 \pm 0.5	7.0 \pm 0.6 (36)***	18.4 \pm 2.1	12.8 \pm 1.7
(4 <i>R</i>)- 59	10.0 \pm 0.7	7.4 \pm 0.6 (26)*	13.4 \pm 1.8	20.3 \pm 3.8
(4 <i>S</i>)- 59	10.0 \pm 0.7	6.6 \pm 1.4	13.4 \pm 1.8	14.5 \pm 2.3
60	9.6 \pm 0.9	3.6 \pm 1.5 (63)**	9.8 \pm 0.8	13.6 \pm 1.7
61	11.1 \pm 0.7	7.5 \pm 1.2 (32)*	12.1 \pm 1.3	14.5 \pm 1.6
62	7.9 \pm 1.1	7.3 \pm 0.9	19.4 \pm 2.7	13.9 \pm 1.0
63	7.9 \pm 1.1	8.9 \pm 0.9	19.4 \pm 2.7	10.5 \pm 1.0 (-46)**
64	8.4 \pm 1.5	5.3 \pm 1.7	14.0 \pm 1.2	17.5 \pm 2.1
65	8.1 \pm 0.5	7.6 \pm 1.1	13.4 \pm 1.6	11.5 \pm 0.9

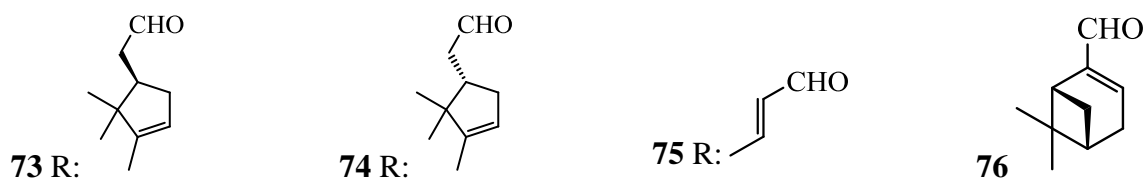
Примечание: % = $(t_{\text{контроль}} - t_{\text{опыт}}) / t_{\text{контроль}} \cdot 100\%$; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$;

*** $P < 0,001$ по сравнению с контролем

Соединения **64** и **65**, полученные из (+)-неоизопулегола, не проявили анальгетической активности в обоих тестах (табл. 3.32), свидетельствуя о необходимости именно *транс*-сочленения колец для проявления анальгетического эффекта в случае соединения **54**.

Также был синтезирован еще один ряд соединений, сочетающих диазаадамантовый и монотерпеноидный фрагменты. Введение адамантильного фрагмента в биологически активные молекулы нередко приводит к уменьшению токсичности и значительному улучшению терапевтического эффекта. Существенный интерес представляют азотистые аналоги адамантана – диазаадамантаны с расположением атомов азота в узлах молекулы (Kuznetsov A.I., Zefirov N.S., 1989; Jimenez-Cruz F. et al., 2005; Parchinsky V. et al, 2011;). Известно, что производные адамантанов, содержащие монотерпеновый заместитель, могут демонстрировать различную фармакологическую активность (Lee R.E. et al., 2003; Kapitsa I.G. et al., 2012; Teplov G.V. et al., 2013; Avgustinovich D.F. et al., 2014; Suslov et al., 2015). Поэтому, на наш взгляд, синтез соединений, сочетающих диазаадамантовый и монотерпеноидный фрагменты, является перспективным для поиска новых биологически активных соединений, обладающих анальгетическим действием (рис. 3.18).



Рисунок 3.18. Соединения **66-76**

Скрининговые исследования на анальгетическую активность были проведены на стандартных моделях "уксусные корчи" и "горячая пластинка", все исследуемые соединения вводили внутривенно.

Соединение **66** в дозе 10 мг/кг не проявило анальгетической активности в тестах "уксусные корчи" и "горячая пластина", но при наблюдении за мышами во время эксперимента было замечено, что введение исследуемого соединения снизило интенсивность корчей, вызванных введением уксусной кислоты (табл. 3.33). Проведение повторного скринингового эксперимента с повышением дозы соединения **66** до 20 и 30 мг/кг привело к достоверному снижению количества корчей и увеличило время нахождения животных на горячей пластине (табл. 3.33). То есть, проявление анальгетической активности соединением **66** носит прямой дозозависимый характер. На основании проведенных экспериментов был сделан вывод о целесообразности тестирования остальных синтезированных соединений этого ряда в скрининговых тестах в дозе 20 мг/кг.

Введение животным изомерного соединения **67** привело к исчезновению анальгетической активности в тесте "горячая пластинка", но сохранению анальгетического эффекта в тесте "уксусные корчи" (табл. 3.33). Таким образом, и в данном случае, абсолютная конфигурация соединения, полученного из монотерпеноида миртеналя, оказывает решающее влияние на проявление им фармакологической активности.

Добавление CH_2 -группы при переходе от соединения **66** к соединению **68** или кетогруппы при переходе к соединению **69** привело к полному

исчезновению проявления данными соединениями анальгетической активности в обоих скрининговых тестах (табл. 3.33).

Таблица 3.33 - Анальгетическая активность соединений **66-76**.

Соед-е		Кол-во укусных корчей		Время на горячей пластине (сек)	
	Доза, мг/кг	Контроль	Mean ± m (%)	Контроль	Mean ± m (%)
66	10	8.6 ± 1.3	6.1 ± 0.7	17.4 ± 2.5	18.0 ± 2.7
66	20	11.0 ± 0.7	5.4 ± 1.0 (51)***	10.7 ± 1.4	21.1 ± 3.2 (97)*
66	30	8.4 ± 0.6	3.3 ± 0.9 (61)***	10.4 ± 1.2	18.9 ± 2.2 (82)**
67	20	9.3 ± 0.4	6.5 ± 1.1 (30)*	20.9 ± 2.0	16.9 ± 3.1
68	20	9.3 ± 0.4	7.9 ± 0.6	20.9 ± 2.0	21.8 ± 2.9
69	20	7.5 ± 1.4	7.4 ± 1.5	11.6 ± 0.8	13.3 ± 1.5
70	20	11.1 ± 1.0	9.4 ± 0.9	12.5 ± 1.0	22.9 ± 2.0 (83)***
71	20	11.1 ± 1.0	7.6 ± 0.8 (32)*	12.5 ± 1.0	24.3 ± 3.2 (94)**
72	20	10.0 ± 0.9	9.3 ± 1.5	12.3 ± 1.6	16.8 ± 4.5
73	20	10.0 ± 0.9	7.9 ± 1.7	12.3 ± 1.6	20.0 ± 3.0 (63)*
74	20	10.0 ± 0.9	8.6 ± 0.8	12.3 ± 1.6	12.1 ± 2.9
75	20	11.1 ± 1.0	7.0 ± 0.9 (37)*	12.5 ± 1.0	17.6 ± 2.8
76	20	8.8 ± 0.5	6.4 ± 0.6 (27)**	12.6 ± 1.9	12.5 ± 1.8

Примечание: % = $(t_{\text{контроль}} - t_{\text{опыт}}) / t_{\text{контроль}} \cdot 100\%$; * P < 0,05; ** P < 0,01;

*** P < 0,001 по сравнению с контролем

Соединения **70** и **71**, синтезированные с использованием цитраля и цитронеллала, достоверно уменьшали латентное время нахождения животных на горячей пластине (табл. 3.33). Кроме того, соединение **71** проявило достоверную анальгетическую активность в тесте химического раздражения, снижая количество корчей, вызванных введением уксусной кислоты (табл. 3.33). Соединение **75**, полученное с использованием кротонового альдегида и обладающее существенно более короткой алифатической цепочкой, чем соединения **70** и **71**, напротив, проявило достоверную анальгетическую активность только в тесте укусные корчи (табл.3.33).

Среди соединений с моноциклическим остовом **72-74** соединение **73** достоверно увеличило латентное время нахождения животных на горячей пластине (табл. 3.33). Отметим, что и в этом случае принципиальное значение имеет абсолютная конфигурация соединения, анальгетическая активность была обнаружено только у (*R*)-изомера соединения **73**, тогда как (*S*)-изомер соединения **74** не проявил анальгетической активности в каком либо из скрининговых тестов.

Хотя анальгетическая активность была обнаружена у нескольких соединений различных структурных типов, наиболее перспективными для дальнейших исследований являются соединения **66** и **71**, проявившие выраженную анальгетическую активность в обоих тестах (рис. 3.19).

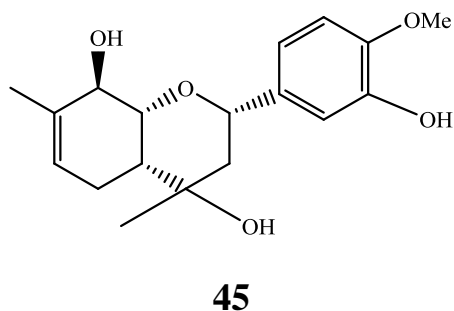
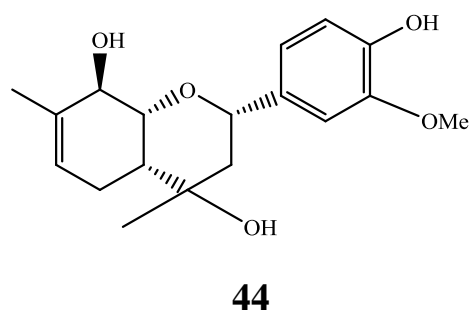


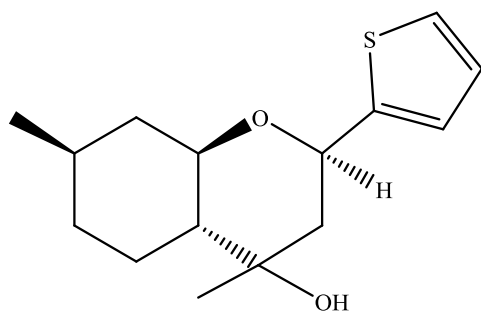
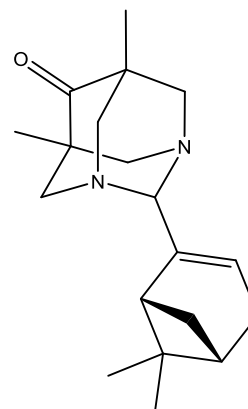
Рисунок 3.19. Соединения **66** и **71**.

В дополнение к проведенным исследованиям по изучению анальгетической активности впервые синтезированных соединений, сочетающих диазаадамантовый и монотерпеноидный фрагменты, была изучена анальгетическая активность монотерпеноида (-)-миртеналя **76** (табл. 3.33). Результаты исследования показали, что монотерпеноид **76** достоверно снижает количество корчей, вызванных введением уксусной кислоты, но не оказывает влияния на латентное время нахождения мышей на горячей пластине (табл. 3.33). Следуя полученным результатам, можно сделать вывод, что присоединение к (-)-миртеналю **76** диазаадамантового фрагмента приводит к резкому усилению проявляемой им анальгетической активности.

Учитывая коммерческую доступность (-)-миртеналя **76**, для дальнейших фармакологических исследований было выбрано соединение **66**, полученное на основе монотерпеноида (-)-миртеналя и проявившее выраженную анальгетическую активность в обоих скрининговых тестах.

Проведя анализ полученных результатов в ходе скрининговых исследований на анальгетическую активность среди всех впервые синтезированных соединений на основе монотерпеноидов, были выявлены несколько соединений, обладающих выраженной анальгетической активностью и являющихся коммерчески доступными в процессе их синтеза, для проведения дальнейших фармакологических исследований (рис. 3.20).



**54****66**Рисунок 3.20. - соединения **44**, **45**, **54**, **66**

Исследование анальгетической активности соединения **45** и его стереоизомера **44** показало, что агент **45** в дозах 5, 10, 15 и 20 мг/кг проявляет достоверную анальгетическую активность в тесте "уксусные корчи", но не активен в тесте на термическое раздражение (табл. 3.34.). Его стереоизомер - соединение **44** в дозах 10, 15 и 20 мг/кг достоверно снизило количество корчей, вызванных введением уксусной кислоты, и увеличило латентное время нахождения животных на горячей пластине. А с понижением дозы до 5 мг/кг соединение **44** осталось активным лишь в тесте химического раздражения и не оказало влияния на латентное время нахождения животных на горячей пластине (табл. 3.34.). На основе проведенных экспериментов в дальнейших фармакологических исследованиях соединения **44** и **45** будут использованы в дозе 10мг/кг.

Таблица 3.34. - Исследование анальгетической активности соединения **45** в тестах "уксусные корчи" и "горячая пластина"

	Латентное время на горячей пластине (сек)				
	Контроль	5 мг/кг	10 мг/кг	15 мг/кг	20 мг/кг
M ± m	15 ± 1,3	19,6 ± 2,6	15,3 ± 0,7	18,8 ± 1,4	14,9 ± 2,3

	Кол-во укусовых корчей				
	Контроль	5 мг/кг	10 мг/кг	15 мг/кг	20 мг/кг
M ± m	10,3 ± 0,6	6,1 ± 0,8**	3,5 ± 1,1***	6,3 ± 1,2*	5,3 ± 1,3***

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ по сравнению с контролем

Таблица 3.35 - Исследование анальгетической активности соединения **44** в тестах "укусные корчи" и "горячая пластина"

	Латентное время на горячей пластине (сек)				
	Контроль	5 мг/кг	10 мг/кг	15 мг/кг	20 мг/кг
M ± m	12,0 ± 1,3	11,6 ± 1,3	17,9 ± 2*	17,9 ± 2,4*	21,1 ± 2,3**
	Кол-во укусовых корчей				
	Контроль	5 мг/кг	10 мг/кг	15 мг/кг	20 мг/кг
M ± m	11,3 ± 0,7	9,5 ± 0,3*	8,9 ± 0,7*	7,9 ± 1,3*	7,1 ± 1,6*

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$ по сравнению с контролем

Соединение **66** проявило выраженную анальгетическую активность в дозе 20 мг/кг в обоих скрининговых тестах, достоверно увеличивая нахождение животных на горячей пластине и сокращая количество корчей, вызванных внутрибрюшинным введением уксусной кислоты, но было неактивно в дозе 10 мг/кг (табл. 3.36). Для дальнейших исследований соединение **66** будем использовать в дозе 20 мг/кг.

Таблица 3.36 - Исследование анальгетической активности соединения **66** в тестах "укусные корчи" и "горячая пластина"

	Латентное время на горячей пластине (сек)			
	Контроль	10 мг/кг	Контроль	20 мг/кг
M ± m	17,4 ± 2,5	18 ± 2,7	10,7 ± 1,4	21,1 ± 3,2*

Кол-во укусных корчей				
	Контроль	10 мг/кг	Контроль	20 мг/кг
M ± m	8,6 ± 1,3	6,1 ± 0,7	11 ± 0,7	5,4 ± 1***

Примечание: * P < 0,05; *** P < 0,001 по сравнению с контролем

Соединение **54** проявило куполообразный дозозависимый эффект и наиболее выраженную анальгетическую активность проявило при введении в дозах 1 и 5 мг/кг, одновременно снижая количество корчей, вызванных введением уксусной кислоты, и увеличивая латентное время нахождения животных на горячей пластине (табл. 3.37.). С увеличением дозы соединения **54** до 10 и 20 мг/кг сохраняется анальгетическая активность в тесте на химическое раздражение (УК), но исчезает в тесте на термическое раздражение (ГП). С понижением дозы соединения **54** до 0,5 мг/кг анальгетический эффект полностью исчезает в обоих тестах (табл. 3.38). Таким образом, наиболее эффективными являются дозы 1 и 5 мг/кг.

Таблица 3.37 - Исследование анальгетической активности соединения **54** в тестах "уксусные корчи" и "горячая пластина"

Латентное время на горячей пластине (сек)				
	Контроль	5 мг/кг	10 мг/кг	20 мг/кг
M ± m	10,7 ± 1,4	18,5 ± 2**	14,4 ± 1,6	16 ± 2,6
Кол-во укусных корчей				
	Контроль	5 мг/кг	10 мг/кг	20 мг/кг
M ± m	11 ± 0,7	6,8 ± 0,9**	6,4 ± 0,6***	8,3 ± 0,5**

Примечание: ** P < 0,01; *** P < 0,001 по сравнению с контролем

Таблица 3.38 - Исследование анальгетической активности соединения **54** в тестах "уксусные корчи" и "горячая пластина"

Латентное время на горячей пластине (сек)				
	Контроль	1 мг/кг	Контроль	0,5 мг/кг
M ± m	10,4 ± 1,2	16,5 ± 1,9*	15,8 ± 1,6	20,3 ± 2,2
Кол-во уксусных корчей				
	Контроль	1 мг/кг	Контроль	0,5 мг/кг
M ± m	8,4 ± 0,6	2,4 ± 0,8***	10,1 ± 0,7	7,4 ± 1,3

Примечание: * P < 0,05; *** P < 0,001 по сравнению с контролем

Острая токсичность была определена для всех соединений. Введение исследуемых агентов в дозе 1000 не привело к гибели животных и не оказало влияния на физическое и психоэмоциональное состояние животных, вес тела и количество потребляемой пищи и воды. LD50 для данных соединений составляет более 1000мг/кг.

В процессе проведения скрининговых исследований по изучению анальгетической активности выбранных соединений **44**, **45**, **54**, **66** наибольшее внимание привлекло соединение **54**, проявившее выраженную анальгетическую активность в низких дозах. Наблюдение за животными в ходе экспериментов показало, что соединение **54** эффективно уменьшает выраженность корчей, вызванных внутрибрюшинным введением уксусной кислоты, вплоть до полного их отсутствия.

Следующие эксперименты по исследованию анальгетической активности соединения **54** были направлены на изучение зависимости анальгетической активности от промежутка времени после внутрижелудочного введения исследуемого агента в дозе 1 мг/кг, а также изучения анальгетической активности при парентеральном способе введения. Результаты эксперимента показали, что соединение **54** в дозе 1 мг/кг при

внутрижелудочном введении проявляет выраженную анальгетическую активность уже через 15 мин после введения агента, которая сохраняется как минимум в течение 24 ч. (табл. 3.39). Очень важно, что, в отличие от опиоидных анальгетиков (Bihel F. et al, 2015), соединение **54** не проявляет признаков гипералгезии в течение всего времени проведения эксперимента.

Таблица 3.39 - Зависимости анальгетической активности от промежутка времени после внутрижелудочного введения соединения **54** в дозе 1 мг/кг в тесте "уксусные корчи"

Время	Количество уксусных корчей	
	Контроль	Mean ± m (%)
15 мин	10,0 ± 0,3	4,1 ± 1,4 (59)***
30 мин	10,0 ± 0,3	7,3 ± 0,7 (27)**
60 мин	10,0 ± 0,3	5,3 ± 1,3 (47)**
2 ч	10,0 ± 0,3	5,6 ± 0,8 (44)***
3 ч	10,1 ± 0,7	7,3 ± 0,5 (28)**
4 ч	10,1 ± 0,7	5,0 ± 1,4 (50)**
5 ч	10,1 ± 0,7	4,0 ± 0,9 (60)***
24 ч	10,4 ± 0,7	5,6 ± 1,0 (45)**

Примечание: % = $(t_{\text{контр}} - t_{\text{эксп}}) / t_{\text{контр}} \cdot 100\%$; **P<0.01; ***P<0.001 по сравнению с контрольной группой

При подкожном введении соединение **54** в дозах 1 и 10 мг/кг также показало выраженную анальгетическую активность в тесте "уксусные корчи" спустя 6 часов после введения агента (табл. 3.40).

Таблица 3.40 Исследование анальгетической активности соединения **54** при подкожном способе введения в тестах "уксусные корчи" и "горячая пластина"

	Количество уксусных корчей		
	Контроль	54 (10 мг/кг)	54 (1 мг/кг)
M ± m	10,4 ± 1,2	6,8 ± 1,1*	7 ± 0,9*

Примечание: * $P < 0,05$; по сравнению с контрольной группой

Изучение влияния тестируемых соединений на двигательную-исследовательскую активность животных проводили в автоматизированной установке Tru Scan.

В результате эксперимента установили, что агент **44** в дозе 10 мг/кг проявил достоверный угнетающий эффект на все показатели двигательной-исследовательской активности животных. А агент **45** в дозе 10 мг/кг достоверно снижал лишь скорость животных и пройденную ими дистанцию (табл. 3.41).

Введение агента **66** также привело к снижению скорости животных и уменьшению пройденной дистанции (табл. 3.42).

Агент **54**, вводимый в дозах 1 и 10 мг/кг, не оказал достоверного влияния на параметры двигательной-исследовательской активности животных (табл. 3.43).

Вероятно, влияние на двигательную активность, вертикальную и исследовательскую активность животных опосредовано механизмом действия исследуемых агентов и вовлечением в их анальгетический ответ различных нейромедиаторных систем головного мозга.

Таблица 3.41 - Влияние соединений **44** и **45** на двигательную-исследовательскую активность животных

№	Общая двигательная активность	Время активности, сек	Дистанция движения, см	Скорость движения (см/с)	Кол-во прыжков	Неподвижный момент, сек	Кол-во вертикальных стоек	Время, проведенное в стойках	Кол-во исслед. отверстий	Время исслед. реакции
	Контроль									
М	77,9	78,4	511,5	4,2	6	40,3	15,6	17,1	8,9	4,3
м	2,4	1,2	18,8	0,2	1	1,1	1,5	0,8	1,3	0,7
	Соединение 45 (10мг/кг)									
М	82	81,5	433,6	3,6	3	38,5	11,5	12,5	6,4	3,2
м	2,9	1,7	14	0,1	1,2	1,7	1,8	2,2	1,2	0,5
р			**	**						
	Соединение 44 (10мг/кг)									
М	84,5	79,8	395,8	3,3	2	40,2	9,8	12,3	5,3	2,9
м	2,7	1,9	24,5	0,3	0,7	1,9	1,6	1,9	0,9	0,4
р			**	**	**		*	*	*	

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; по сравнению с контролем

Таблица 3.42 - Влияние соединения **66** на двигательно-исследовательскую активность животных

№	Общая двигательная активность	Время активности, сек	Дистанция движения, см	Скорость движения (см/с)	Кол-во прыжков	Неподвижный момент, сек	Кол-во вертикальных стоек	Время, проведенное в стойках	Кол-во исслед. отверстий	Время исслед. реакции
Контроль										
М	77,4	87	532,2	4,4	4,3	33	16,5	12,7	12,9	5,1
м	2,7	1,8	31,3	0,3	1,8	1,8	3,1	2,8	1,6	0,8
Соединение 66 (20 мг/кг)										
М	79,9	81,2	439,7	3,6	2	38,8	9,8	9,5	9,9	4,2
м	3,1	2,3	29	0,2	0,7	2,3	1,4	2,1	1,6	0,7
р			*	*						

Примечание: * $P < 0,05$ по сравнению с контролем

Таблица 3.43 - Влияние соединений **54** на двигательную-исследовательскую активность животных

[illegible]

Экспериментальные модели боли, вызванные химическим раздражением брюшины, являются висцеральными воспалительными моделями боли, поэтому ненаркотические анальгетики, такие, как ацетилсалициловая кислота или индометацин, способны снижать количество корчей, вызванных введением уксусной кислоты (Panthong A. et al., 2007). Механизм анальгетического действия НПВС связан с угнетающим влиянием этой группы веществ на синтез простагландинов (в результате ингибирования фермента циклооксигеназы), которые вызывают гиперальгезию – повышают чувствительность ноцицепторов к химическим и механическим стимулам (Харкевич Д.А., 2005).

В результате проведенных исследований на обнаружение противовоспалительной активности для соединений **44**, **45**, **54** и **66** ни один из исследуемых агентов не оказал достоверного влияния на развитие отека, вызванного введением формалина (3%) в подошвенный апоневроз стопы животных, то есть не проявил противовоспалительной активности (табл.3.44; 3.45). Таким образом, механизм действия исследуемых веществ не является сходным с таковым нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВС).

Таблица 3.44 - Исследование противовоспалительной активности агентов **54** и **66**

	Группы			
	Контроль	54 (20 мг/кг)	66 (60 мг/кг)	Диклофенак Na (20 мг/кг)
M±m	48,7 ± 7	46,8 ± 4,9	53 ± 3,8	15,6 ± 1,5 ***

Примечание: ***P < 0,001; по сравнению с контрольной группой

Таблица 3.45 - Исследование противовоспалительной активности агентов **44** и **45**

	Группы			
	Контроль	45 (10 мг/кг)	44 (10 мг/кг)	Диклофенак Na (20 мг/кг)
M±m	21,14 ± 2,1	22,2 ± 2,8	20,7 ± 2,6	12,5 ± 1,8 ***

Примечание: ***P < 0,001; по сравнению с контрольной группой

Среди различных механизмов действия, опосредующих анальгетический ответ биологически активных соединений, наиболее распространенными являются вовлечение в механизм анальгетического действия каннабиноидной и опиоидной систем центральной нервной системы (Manzanares J. et al., 1999). Имеются данные, что опиоидные анальгетики, такие, как морфин и фентанил, проявляют дозозависимое ингибирующее влияние на двигательную активность животных (Craft R. M. et. al., 2006; Knych H. K. et. al., 2015), тогда как каннабиноиды, например, Δ^9 -тетрагидроканнабинол, подавляет двигательную активность животных (Marshall K. et.al., 2014).

Учитывая, что исследуемые соединения оказывают влияние на показатели двигательной-исследовательской активности животных в тесте "открытое поле", можно предположить, что каннабиноидные и/или опиоидные рецепторы могут быть вовлечены в механизм анальгетического действия исследуемых соединений.

Изучение вовлечения опиоидных и каннабиноидных рецепторов в механизм анальгетического действия соединений было проведено на модели "уксусные корчи". Неселективный антагонист опиоидных рецепторов налоксон вводили интраперитонеально в дозе 1мг/кг за 15 минут до введения исследуемых соединений (Lewanowitsch T. et.al., 2006), а антагонист CB1-

каннабиноидных рецепторов римонабант (3 мг/кг, *i.p.*) за 10 мин до введения тестируемых веществ (Booker L. et al., 2009).

Результаты исследований показали, что налоксон не оказал влияния на проявление анальгетической активности соединениями **45** (табл. 3.46), **66** и **54** (табл. 3.47), в то время как полностью ингибировал проявление анальгетической активности соединением **44** (табл. 3.46).

Таблица 3.46 - Исследование анальгетической активности соединения **44** и **45** на фоне введения налоксона в тесте "уксусные корчи"

	Количество уксусных корчей					
	Контр.	Налоксон	44	44 + налоксон	45	45 + налоксон
M ± m	12,4 ± 0,7	9,6 ± 1 *	9,5 ± 0,6**	10,4 ± 0,9	8,3 ± 0,8**	8,3 ± 0,6***

Примечание: *P<0,05; **P<0,01; ***P< 0,001 по сравнению с контрольной группой

Таблица 3.47 - Исследование анальгетической активности соединения **54** и **66** на фоне введения налоксона в тесте "уксусные корчи"

	Количество уксусных корчей				
	Контр.	Налоксон	66 (20 мг/кг) + налоксон	54 (10 мг/кг) + налоксон	54 (1 мг/кг) + налоксон
M ± m	10 ± 0,5	9 ± 0,9	7,1 ± 1,1*	6,9 ± 1*	6,1 ± 1,4*

Примечание: * P < 0,05; по сравнению с контрольной группой

Введение римонабанта полностью блокировало проявление анальгетической активности всех исследуемых соединений (**44**, **45**, **54**, **66**) в тесте "уксусные корчи" (табл. 3.48; 3.49).

Таблица 3.48 - Исследование анальгетической активности соединения **44** и **45** на фоне введения римоабанта

	Количество укусных корчей			
	Контроль	Римонабант	44 + римоабант	45 + римоабант
M ± m	8,6 ± 1,4	9,4 ± 1,4	6,6 ± 1,3	9,1 ± 1,4

Таблица 3.49 - Исследование анальгетической активности соединения **54** и **66** на фоне введения римоабанта

	Количество укусных корчей				
	Контр.	Римонабант	54 (10 мг/кг) + римоабант	54 (1 мг/кг) + римоабант	66 (20 мг/кг) + римоабант
M ± m	6,3 ± 2,1	6,4 ± 2,2	3,8 ± 1,2	6,3 ± 1,1	4,6 ± 1,1

Эксперименты показали, что в анальгетический ответ всех исследуемых соединений, вероятно, вовлечены каннабиноидные рецепторы, а механизм анальгетического действия соединения **44** опосредован еще и через опиоидные рецепторы центральной нервной системы.

Полученные данные позволили выявить связь структура-активность в проявлении анальгетической активности двумя стереоизомерами **44** и **45**. Положение метоксигруппы в фенильном кольце оказывает решающее влияние на механизм анальгетического действия соединений **44** и **45**, вовлекая в анальгетический ответ различные рецепторы: каннабиноидные для соединения **45** и, по крайней мере, частично, опиоидные для соединения **44**.

Учитывая вовлечение в механизм действия соединения **44** опиоидных (наркотических) рецепторов, проведение дальнейших исследований по изучению его анальгетической активности посчитали нецелесообразным.

3.16. Изучение вовлечения различных нейромедиаторных систем центральной нервной системы в механизм анальгетического действия новых проихводных монотерпеноидов

Исследование вовлеченности различных медиаторных систем головного мозга в механизм анальгетического действия тестируемых соединений было проведено в серии экспериментов на модели "уксусные корчи" с использованием антагонистов к рецепторам основных нейромедиаторных систем, которые могут принимать участие в реализации анальгетического ответа. Используемые антагонисты вводили животным за 15 мин до исследуемых агентов.

Известно, что 5-HT_{1A}, 5-HT₂ и 5-HT₃-серотониновые рецепторы принимают активное участие в ноцицептивной модуляции (Bardin L. et al., 2000; Sasaki F. et al., 2001; Millan M.J., 2002).

Введение антагониста 5-HT₃-серотониновых рецепторов одансетрона интраперитонеально в дозе 0,5 мг/кг за 15 минут до введения соединений не оказало влияния на проявление анальгетической активности соединениями **54** и **66**, но полностью блокировало антиноцицептивный ответ соединения **45** в тесте "уксусные корчи" (табл. 3.50).

Таблица 3.50 - Исследование анальгетической активности соединений **45**, **54**, **66** на фоне введения ондансетрона

	Количество уксусных корчей				
	Контроль	Ондансетрон (0,5 мг/кг)	Ондансетрон+ 45 (10 мг/кг)	Ондансетрон + 54 (10 мг/кг)	Ондансетрон + 66 (20 мг/кг)
M ± m	8,1 ± 1,1	5,9 ± 0,5	6,8 ± 0,9	4,4 ± 0,7**	4 ± 1*

Примечание: * P < 0,05; ** P < 0,01; по сравнению с контрольной группой

Предварительное введение кетансерина тартрата (0,3мг/кг *i.p.*) - антагониста 5-HT₂-серотониновых рецепторов не оказало влияния на

количество корчей, индуцированных введением уксусной кислоты (табл. 3.51). Полученные результаты позволяют предположить, что механизм анальгетического действия соединения **45** частично опосредован через серотонинергическую систему центральной нервной системы, и, в частности, 5HT₃-серотониновые рецепторы.

Таблица 3.51 - Исследование анальгетической активности соединений **45**, **54**, **66** на фоне введения кетанасерина тартрата.

	Количество уксусных корчей				
	Контроль	Кетансерин (0,3 мг/кг)	Кетансерин + 45 (10 мг/кг)	Кетансерин + 54 (10 мг/кг)	Кетансерин + 66 (20 мг/кг)
M ± m	7,5 ± 0,5	6,1 ± 0,5	5 ± 1*	5,1 ± 0,8*	2,5 ± 0,8***

Примечание: * P < 0,05; *** P < 0,001 по сравнению с контрольной группой

Как показывают различные исследования на животных, дофаминергическая система задействована в патогенезе хронической и острой боли (Esposito E. et al., 1986; Hagelberg N. et al., 2003). Некоторые агонисты дофамина, включая кокаин, амфетамин и метилфенидат обладают анальгетическим действием в исследованиях на животных (Morgan M.J. et al., 1991).

Введение галоперидола (1мг/кг, *i.p.*, за 15 мин до введения агентов)-неселективного антагониста дофаминовых рецепторов не привело к изменениям в проявлении исследуемыми соединениями анальгетической активности в тесте "уксусные корчи" (табл. 3.52). Антагонист D1-дофаминовых рецепторов R(+)-SCH-23390, введенный в дозе 0,05 мг/кг интраперитонеально полностью блокировал анальгетический эффект соединения **54**, но не повлиял на ноцицептивную активность других исследуемых соединений в тесте "уксусные корчи" (табл. 3.53). Предварительное введение антагониста D2-дофаминовых рецепторов сульпирида (5мг/кг, *i.p.*) блокировало развитие анальгетического ответа

соединений **45** и **54**, но не повлияло на анальгетическую активность соединения **66** (табл. 3.54).

Таблица 3.52 - Исследование анальгетической активности соединений **45**, **54**, **66** на фоне введения галоперидола

	Количество укусных корчей				
	Контроль	Галоперидол (1 мг/кг)	Галоперидол + 45 (10 мг/кг)	Галоперидол + 54 (10 мг/кг)	Галоперидол + 66 (20 мг/кг)
M ± m	8,1 ± 1,5	6 ± 1,4	2 ± 0,8**	2,8 ± 1,1*	4 ± 0,6*

Примечание: * P < 0,05; ** P < 0,01 по сравнению с контрольной группой

Таблица 3.53 - Исследование анальгетической активности соединений **45**, **54**, **66** на фоне введения R(+)-SCH-23390

	Количество укусных корчей				
	Контроль	R(+)-SCH- 23390 (0,05 мг/кг)	R(+)-SCH- 23390 + 45 (10 мг/кг)	R(+)-SCH- 23390 + 54 (10 мг/кг)	R(+)-SCH- 23390 + 66 (20 мг/кг)
M ± m	7 ± 0,3	7,3 ± 1,6	3,8 ± 1,2*	5,8 ± 1	3,4 ± 0,9*

Примечание: * P < 0,05 по сравнению с контрольной группой

Таблица 3.54 Исследование анальгетической активности соединений **45**, **54**, **66** на фоне введения сульпирида

	Количество укусных корчей				
	Контроль	Сульпирид (5 мг/кг)	Сульпирид + 45 (10 мг/кг)	Сульпирид + 54 (10 мг/кг)	Сульпирид + 66 (20 мг/кг)
M ± m	8 ± 0,7	7,1 ± 1,4	7,6 ± 1	5,6 ± 0,9	4,3 ± 0,8**

Примечание: ** P < 0,01 по сравнению с контрольной группой

Таким образом, можно резюмировать, что в механизм анальгетического действия соединения **45**, вероятно, вовлечены D2-дофаминовые рецепторы, тогда как соединение **54**, возможно, опосредует

свой анальгетический ответ и через D1-, и через D2-дофаминовые рецепторы центральной нервной системы. Но дофаминовая система, вероятно, не принимает участие в реализации ноцицептивного ответа соединением **66**.

Адренорецепторы присутствуют во всех органах, тканях и клетках организма; они участвуют в регуляции многих метаболических процессов, таких, как секреция, сокращение мышц, регулирование артериального давления и т. д. Неоднократно было показано, что $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -адренорецепторы принимают участие в болевой модуляции (Hord A.H. et al, 2001; Hassenbusch S. J. et al, 2002; Millan M. J. et al, 2002). Антагонисты $\alpha 2$ -адренорецепторов уже были рассмотрены как перспективные средства, применяемые в анестезии и управлении болью (Leiphart J.W. et al, 2004).

Изучение вовлечения адренергической системы в механизм анальгетического действия исследуемых соединений было проведено на модели "уксусные корчи" на фоне введения антагониста $\alpha 2$ -адренорецепторов йохимбина (1 мг/кг *i.p.*). Результаты эксперимента показали, что предварительное введение йохимбина блокировало антиноцицептивную активность соединения **45**, но не оказало влияния на анальгетический эффект, проявляемый соединениями **54** и **66** в тесте "уксусные корчи" (табл. 3.55). То есть, $\alpha 2$ -адренорецепторы, вероятно, вовлечены в механизм анальгетического действия только соединения **45**.

Таблица 3.55 - Исследование анальгетической активности соединений **45**, **54**, **66** на фоне введения йохимбина.

	Количество уксусных корчей				
	Контроль	Йохимбин (1 мг/кг)	Йохимбин + 45 (10 мг/кг)	Йохимбин + 54 (10 мг/кг)	Йохимбин + 66 (20 мг/кг)
M ± m	8,1 ± 1	8,8 ± 0,5	5,6 ± 1,1	3,8 ± 0,8**	4,9 ± 0,5*

* P < 0,05; ** P < 0,01 по сравнению с контрольной группой

Многие монотрепеноиды оказывают влияние на функции ГАМК-эргической системы через различные механизмы действия (Manayi A. et al, 2016). При этом ГАМК играет важную роль в формировании нисходящего пути проведения боли в центральной нервной системе. Известно, что агонисты ГАМК-эргических рецепторов (мусцимол, THIP, баклофен) обладают антиноцицептивной активностью (Serrano M.I. et al., 1994).

Предварительное введение антагониста ГАМК-эргических рецепторов бикикуллина в дозе 1 мг/кг интрапеританеально не оказало влияния на проявление анальгетической активности исследуемых соединений **45, 54 и 66** в тесте "уксусные корчи" (табл. 3.56), что указывает на отсутствие воздействия на ГАМК-эргическую систему исследуемых соединений в реализации их ноцицептивного ответа.

Таблица 3.56 - Исследование анальгетической активности соединения **43, 52, 64** на фоне введения бикикуллина

	Количество уксусных корчей				
	Контроль	Бикикуллин (1 мг/кг)	Бикикуллин + 45 (10 мг/кг)	Бикикуллин + 54 (10 мг/кг)	Бикикуллин + 66 (20 мг/кг)
M ± m	6,9 ± 0,4	7,3 ± 0,8	4,9 ± 0,8*	5,4 ± 0,6*	4,4 ± 0,8*

Примечание: * P < 0,05 по сравнению с контрольной группой

Известно, что холинергические рецепторы проявляют как ингибирующую, так и возбуждающую активность. Никотиновые и мускариновые рецепторы холинергической системы принимают участие в проведении болевого импульса в стволе головного мозга (Iwamoto E.T. et al., 1994). M2- и M4-мускариновые рецепторы вовлечены в механизм анальгетического действия мускариновых агонистов (Duttaroy A. et al., 2002), а также антиноцицептивная активность наблюдается и у никотиновых агонистов (Nalwalka J. et al., 2005).

Введение антагониста мускариновых рецепторов скопоманина (2,5 мг/кг, *i.p.*) привело к полному исчезновению проявления анальгетической активности соединениями **54** и **66**, тогда как не оказало влияния на таковую соединения **45** в тесте "уксусные корчи" (табл. 3.57). Результаты эксперимента показали, что, вероятно, механизм анальгетического действия соединений **54** и **66** опосредован через мускариновые рецепторы.

Таблица 3.57 - Исследование анальгетической активности соединений **43**, **52**, **64** на фоне введения скополамина

	Количество уксусных корчей				
	Контроль	Скополамин (2,5 мг/кг)	Скополамин + 45 (10 мг/кг)	Скополамин + 54 (10 мг/кг)	Скополамин + 66 (20 мг/кг)
M ± m	7,6 ± 0,8	7,6 ± 1,1	4 ± 0,7**	5,4 ± 1	6,6 ± 1,4

Примечание: * P < 0,05; ** P < 0,01 по сравнению с контрольной группой

Оценку влияния исследуемых соединений на никотиновые рецепторы проводили с использованием теста "никотиновая токсичность". Результаты эксперимента показали, что исследуемые соединения **45**, **54** и **66** не оказали достоверного влияния на уровень смертности у животных (табл. 3.58), вызванной введением никотина (20 мг/кг, подкожно).

Таблица 3.58 - Влияние соединений **45**, **54**, **66** на уровень смертности животных в тесте "никотиновая токсичность"

	Никотин 20 мг/кг	Никотин + 54 10 мг/кг	Никотин + 66 10 мг/кг	Никотин + 45
Кол-во погибших	3/8	2/8	3/8	4/8
% Летальности	37,5%	25%	37,5%	50%

Подводя итог, можно заключить, что все исследуемые соединения имеют сходство в механизме действия, так как опосредуют анальгетический

ответ, по крайней мере, частично, через каннабиноидные СВ1-рецепторы. Вовлечение же других нейромедиаторных структур в механизм анальгетического действия исследуемых соединений варьируется и представлен в таблице 3.59.

Таблица 3.59 - Вовлечение рецепторов нейромедиаторных структур в механизм анальгетического действия соединений **45, 54, 66**

Рецепторы	Вовлечение (+/-)		
	45	54	66
Опиоидные	-	-	-
Каннабиноидных СВ1-рецепторы	+	+	+
5-НТ2-серотониновые	-	-	-
НТ3-серотониновые	+	-	-
Мускариновые	-	+	+
Никотиновые	-	-	-
α2-адреналиновые	+	-	-
ГАМК	-	-	-
Дофаминовые	-	-	-
D2-дофаминовые	+	+	-
D1-дофаминовые	-	+	-

Основным побочным эффектом ненаркотических обезболивающих препаратов, используемых в лечебной практике, является высокий риск развития нежелательных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта: диспептические расстройства, эрозии и язвы желудка и двенадцатиперстной кишки, а так же кровотечения и перфорации (Gregory T.C. et al, 2014). В настоящее время выделен специфический синдром - НПВС-гастродуоденопатия, который связан с локальным повреждающим влиянием НПВС на слизистую желудочно-кишечного тракта и обусловлен

ингибированием изофермента ЦОГ-1 в результате системного действия препаратов (Muhammad A. M. et al, 2007).

Для исследования ulcerогенного действия исследуемые соединения **45, 54 и 66** вводили внутривентриально в дозе 30 мг/кг в течение трех дней. На 4-й день животных подвергли эвтаназии и визуально оценивали эффект воздействия этих соединений на слизистую желудка крыс, в качестве препарата сравнения был выбран нестероидный противовоспалительный препарат - индометацин натрия в дозе 20 мг/кг.

Трехдневное введение индометацина натрия в дозе 20 мг/кг привело к гибели 50% животных в группе, у остальных животных на слизистой желудка были обнаружены множественные эрозии и изъязвления. Введение же исследуемых соединений в целом не оказало влияния на состояние животных, при визуальном осмотре слизистой желудка повреждений не обнаружено, цвет и рельеф слизистой оболочки желудка практически не отличалась от таковой у животных контрольной группы.

№	Контроль	Индометацин	45	54	66
1	Слизистая розовая, складчатая, без повреждений	Слизистая бледно-розовая, эрозирована, складчатость сглажена, 11 обширных язв	Слизистая розовая, складчатость слабо выражена, без повреждений	Слизистая розовая, складчатость отсутствует, без повреждений	Слизистая розовая, складчатая, без повреждений
2	Слизистая розовая, складчатая, без повреждений	Слизистая бледно-розовая, складчатость сглажена, многочисленны е эрозии, 5 точечных язв	Слизистая розовая, складчатость слабо выражена, без повреждений	Слизистая розовая, очаги гиперемии, складчатость слабо выражена, без повреждений	Слизистая розовая, складчатость слабо выражена, эрозии
3	Слизистая	Слизистая	Слизистая	Слизистая	Слизистая

	розовая, складчатость слабо выражена, без повреждений	бледно-розовая, складчатость сглажена, эрозии, 4 крупные язвы	розовая, складчатая, без повреждений	розовая, слабо выражена складчатость, эрозии	розовая, складчатость слабо выражена, без повреждений
4	Слизистая розовая, очаги гиперемии, складчатая, без повреждений	Слизистая бледно-розовая, складчатая, эрозии, 4 точечные язвы	Слизистая розовая, складчатая, без повреждений	Слизистая розовая, складчатая, без повреждений	Слизистая розовая, складчатая, без повреждений
5	Слизистая розовая, очаги гиперемии, складчатость слабо выражена, без повреждений	погибла	Слизистая розовая, складчатая, без повреждений	Слизистая розовая, складчатая, без повреждений	Слизистая гиперемирован а, складчатость слабо выражена, без повреждений
6	Слизистая розовая, складчатость слабо выражена, без повреждений	погибла	Слизистая гиперемирова на, складчатая, без повреждений	Слизистая розовая, складчатость слабо выражена, без повреждений	Слизистая гиперемирован а, складчатость слабо выражена, без повреждений
7	Слизистая розовая, складчатая, без повреждений	погибла	Слизистая розовая, складчатая, 1 эрозия	Слизистая гиперемирован а, складчатость слабо выражена, множество мелких язв	Слизистая розовая, складчатость слабо выражена, 2 эрозии
8	Слизистая розовая, складчатая,	погибла	Слизистая розовая, складчатая,	Слизистая ярко-розовая, складчатость	Слизистая розовая, складчатая, без

	складки гиперемирован ы, без повреждений		без повреждений	сглажена, складки гиперемирован ы, эрозии	повреждений
--	---	--	--------------------	--	-------------

Результаты эксперимента показали, что исследуемые соединения **45, 54, 66** не оказывают выраженного раздражающего действия на слизистую оболочку желудка крыс, то есть обладают явным преимуществом по сравнению с группой нестероидных противовоспалительных препаратов, обладающих выраженным гастротоксическим побочным эффектом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Болезнь Паркинсона (БП) - прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, которое по распространенности уступает только болезни Альцгеймера и поражает 1% населения старше 60 лет (Kalia L.V., Lang A.E., 2015). В настоящее время болезнью Паркинсона страдает около 4 млн. человек в мире, и ожидается, что к 2030 г. эта цифра удвоится (Miranda, B.R. Greenamyre J.T., 2017). Риск заболевания БП увеличивается с возрастом, так около 2% людей старше 65 лет и 4-5% людей старше 85 лет страдают этим заболеванием (Outeiro T. F., Ferreira J., 2009).

Болезнь Паркинсона - неизлечимая болезнь с вовлечением в течение нарушения моторного поведения (замедлением движения, ригидностью, постуральной нестабильностью и тремором покоя) (Fahn S., 2003), а также когнитивных и эмоциональных расстройств (Esposito E., Cuzzocrea S., 2010). Риск развития БП, по-видимому, увеличивается за счет комбинации генетических факторов и факторов окружающей среды. Клиническая патология и диагностика обусловлены прогрессирующей преждевременной смертью дофаминергических нейронов в substantia nigra pars compacta (SNps) и наблюдением аномальных белковых агрегатов, называемых тельцами Леви, которые содержат белок альфа-синуклеин (Kalia L.V., Lang A.E., 2015). Дефицит дофаминергических нейронов провоцирует развитие нарушения двигательных функций, которые проявляются тремором, брадикинезией и постуральной нестабильностью. Также может присутствовать ряд немоторных симптомов, включая обонятельную и/или вегетативную дисфункцию, когнитивные нарушения, психиатрические симптомы, нарушение сна, боль и усталость. Неоднородность в начале заболевания и наличие различных симптомов усложняют диагностику, а также разработку схемы лечения БП (Kalia L.V., Lang A.E., 2015).

В настоящее время общепринятые методы лечения БП и ПС синдрома сфокусированы на компенсаторных подходах, направленных на устранение

клинических симптомов проявления этих заболеваний (Ellis J.M., Fell M.J., 2017). Применяемые методы лечения БП направлены, в первую очередь, на повышение уровня дофамина в стриатуме головного мозга для уменьшения дефицита двигательной активности. К сожалению, эти подходы не представляют собой долгосрочного решения, поскольку каждый из них теряет эффективность по мере прогрессирования дофаминергической нейродегенерации.

Препараты, используемые в лечении БП и ПС:

1. Предшественник дофамина Леводопа (L-DOPA), который под влиянием ароматической L-аминокислоты декарбоксилазы превращается в дофамин, обычно назначается для повышения уровня дофамина у пациентов с БП. Леводопа с 1967 года остается золотым стандартом в лечении симптомов БП и является неотъемлемым компонентом комбинированной терапии (Tolosa E. et al., 1998). Но леводопа имеет тенденцию терять эффективность с течением времени, причем более чем у 80% пациентов, находящихся на лечении Леводопой более 10 лет, развивается дискенезия и периоды "включения/выключения" (Hickey P., Stacy M., 2011). Поэтому одним из направлений фармакологических исследований является модификация предшественника дофамина с целью усилить терапевтический эффект и уменьшить побочные действия препарата.

2. Агонисты дофаминовых рецепторов действуют непосредственно на дофаминовые рецепторы, усиливая действие дофамина. Одобренные методы лечения, которые способствуют усилению выработки дофамина посредством активации D2-дофаминовых рецепторов и назначаются для лечения БП, включают в себя апоморфин, бромокриптин, ропинирол, прамипексол и ротиготин.

3. Необратимые ингибиторы МАО-В (селегелин, разагилин) были включены в терапевтическую схему лечения БП для замедления метаболизма дофамина и, тем самым, увеличения концентрации дофамина в головном

мозге. МАО-В (моноаминоксидаза В) является ферментом, участвующим в метаболизме дофамина с образованием 3,4-дигидроксифенилуксусной кислоты, которая далее трансформируется катехол-*O*-метилтрансферазой в гомованиловую кислоту (Edmondson D.E. et al., 2007).

4. Катехол-*O*-метилтрансфераза (COMT) является ферментом, катализирующим метаболический путь превращения дофамина в 3-метокситерамин, который впоследствии окисляется МАО-В до гомованиловой кислоты (Axelrod J., 1957). Аналогично МАО-В ингибирование COMT приводит к повышению уровня дофамина в головном мозге и, как следствие, уменьшению двигательной симптоматики. В качестве комбинированной терапии для лечения БП применяют этакапон и толкапон.

5. Антихолинергические средства не действуют непосредственно на дофаминергическую систему, но вместо этого модулируют активность ацетилхолина, который принимает участие в регуляции двигательных актов и может оказывать влияние на развитие тремора и дистонии у пациентов с БП. Холиномиметики бензатропин и тригексифенидил являются двумя утвержденными препаратами для лечения БП

6. Помимо основных перечисленных выше методов лечения БП существуют еще другие утвержденные препараты, воздействующие на симптоматические проявления заболевания. Амантадин является антагонистом глутаматных рецепторов и исторически используется в качестве противовирусного средства, но был утвержден как препарат для смягчения проявлений дискенизии при БП (Crosby N.J. et al., 2003). Дроксидопа является пролекарством норадреналина, который был недавно одобрен в США для управления нейрогенной ортостатической гипотензией при БП. Пимавансерин - агонист 5-НТ-серотониновых рецепторов был утвержден для лечения галлюцинаций, психозов и заблуждений, связанных с БП. Ривастигмин - ингибитор ацетилхолинэстеразы используется для лечения слабоумия при БП.

Описанные лекарственные средства обычно используются в комбинации для усиления терапевтического эффекта (Ellis J.M., Fell M.J., 2017).

Существующие лекарственные препараты, используемые для лечения БП и ПС, направлены исключительно на коррекцию возникающей симптоматики, но не оказывают влияния на патогенез заболевания. Что делает актуальным поиск и разработку новых противопаркинсонических лекарственных средств, способных останавливать и/или предотвращать развитие болезни, воздействуя непосредственно на патогенетическое звено заболевания.

В данной работе представлены результаты исследования фармакологической активности диола, для которого была обнаружена выраженная противопаркинсоническая активность.

Влияние диола на дофаминергические структуры головного мозга было выявлено в ходе начального этапа фармакологического скрининга в тесте "открытое поле" на фоне введения предшественника дофамина L-ДОФА. Было обнаружено, что диол усиливает угнетающее действие L-ДОФА в тесте "открытое поле", тем самым проявляет дофаминомиметические свойства. Также было обнаружено, что диол проявляет холинолитические свойства в тестах с ареколином и никотином. Сопоставление обнаруженных свойств и развивающегося при БП нейромедиаторного дисбаланса между дофаминергическими и холинергическими нейромедиаторами головного мозга послужило основанием для исследования противопаркинсонической активности диола.

В проведенных сериях экспериментов по исследованию противопаркинсонической активности было показано, что диол в дозе 20 мг/кг при внутрижелудочном введении полностью восстанавливает параметры двигательной-исследовательской активности в тесте "открытое поле" в модели экспериментального паркинсонизма, вызванного

однократным введением нейротоксина МФТП. Введение диола препятствует развитию пилоэрекции и саливации, способствует снижению тремора и ригидности, вызванных введением нейротоксина МФТП. Противопаркинсоническое действие диола (20 мг/кг, *per os*) было подтверждено в эксперименте, проведенном согласно международному протоколу, при 4-кратном введении нейротоксина МФТП.

В экспериментах с 10-дневным и 30-дневным введением нейротоксина диол также проявил выраженное противопаркинсоническое действие. Диол значительно снижал процент гибели мышей, вызванной 10-дневным введением нейротоксина МФТП, и превосходил по эффективности эталон сравнения леводопу. В 30-дневном эксперименте диол действовал аналогично препарату сравнения леводопе, снимая проявления олигокинезии, вызванной введением нейротоксина МФТП, и повышая уровень дофамина в стриатуме головного мозга крыс.

В НИИ фармакологии им. В.В. Закусова было показано, что субхроническое (7-14 дней) введение диола в дозе 20 мг/кг значительно снижает выраженность паркинсонического синдрома, вызванного системным введением нейротоксина ротерона. В экспериментах с 6-OHDA-индуцированным паркинсоническим синдромом было обнаружено, что диол в дозе 20 мг/кг значительно снижает проявления сенсомоторного дефицита правых конечностей в тесте "сужающаяся дорожка" уже на 7 день, в то время как эффект от введения леводопы проявлялся только на 14 день (Valdman E. et al 2017).

Исследования влияния абсолютной конфигурации на проявление диолом противопаркинсонической активности показали, что обязательным условием проявления противопаркинсонической активности диолом в тесте с нейротоксином МФТП является определенное взаиморасположение гидрокси- и изопропенильной группы. Диол состоит из наиболее активного стереоизомера **6** (85%) и изомера **11** (15%), проявившего тенденцию к

противопаркинсонической активности, что делает получение диола (85:15) наиболее фармакоэкономичным, поскольку его оптическая чистота соответствует таковой исходного монотерпеноида (-)вербенона - коммерчески доступного вещества для синтеза диола.

Противопаркинсоническое действие диола подтвердили на моделях лекарственного паркинсонизма с использованием трифтазина и галопередола, которые являются блокаторами D₂- дофаминовых рецепторов. Диол полностью устранял развитие галоперидоловой каталепсии и сокращал продолжительность трифтазиновой. В тесте с йохимбином диол не проявил ингибирующего действия на МАО-В, что еще раз подтверждает наличие именно противопаркинсонической активности у диола.

Противопаркинсоническая активность диола была подтверждена в независимом исследовании, проведенном НИИ фармакологии им. В.В. Закусова. В ряде экспериментов было установлено, что диол обладает противопаркинсонической активностью как в тестах с системным введением нейротоксина МФТП, так и в других стандартных экспериментальных моделях для изучения противопаркинсонической активности, а именно: галоперидол-индуцированной каталепсии, резерпин-индуцированных экстрапирамидных расстройствах, оксотремориновом треморе. (Valdman E. et al, 2017). Изучение противопаркинсонической активности диола на модели ПС, вызванного системным введением нейротоксина МФТП, показало, что диол (20 мг/кг, *per os*) проявляет выраженную противопаркинсоническую активность, улучшая показатели горизонтальной и вертикальной двигательной активности животных в тесте "открытое поле", достоверно восстанавливает двигательную активность мышечной в модели резерпин-индуцированной олигокинезии, обладает выраженным антикаталептогенным действием, аналогичным препарату сравнения L-DOPA. В модели галоперидо-индуцированной каталепсии диол снижает выраженность и количество животных с тремором в модели тремора, индуцированного

введением оксотреморина (специфического агониста М-холинорецепторов) (Valdman E. et al, 2017).

Исследование острой токсичности диола показало, что его $LD_{50} = 4250 \text{ мг/кг}$ при однократном внутрижелудочном введении, а это в 1,8 раз превосходит среднюю смертельную дозу препарата сравнения леводопы ($LD_{50} = 2363 \text{ мг/кг}$). Увеличение показателя LD_{50} позволяет увеличить широту терапевтического действия диола по сравнению с леводопой.

В длительном эксперименте (30 дней) было установлено, что диол при ежедневном внутрижелудочном введении в дозе 20 мг/кг не оказывает негативного влияния на жизненно важные системы и органы животных, не влияет на набор массы тела и температуру.

Было установлено, что диол обладает выраженной анальгетической активностью в тесте химического раздражения, что добавляет ему преимущество для применения диола в качестве противопаркинсонического средства, оказывая анальгетический эффект у пациентов с БП, испытывающих боли, связанные с ригидностью и дискинезией мышц.

При изучении влияния химической структуры диола на проявления им противопаркинсонической активности было показано, что наличие в структурной формуле всех четырех функциональных групп (две гидроксигруппы и две двойные связи) имеет решающее значение для проявления диолом противопаркинсонической активности.

Поэтому исследование противопаркинсонической активности было проведено для производных диола, модифицируемых по С-9 положению, но без внесения изменений в основную молекулу, оставляя все четыре функциональные группы (две двойные связи и две гидроксигруппы). Исследование противопаркинсонической активности производных диола показало, что введение заместителей, содержащих гетероатомы в С-9 положении, привело к полной или частичной потере проявления полученными соединениями антипаркинсонической активности. А введение

в молекулу диола алифатического или тиаалифатического заместителя позволило сохранить проявление исследуемыми соединениями выраженных противопаркинсонических свойств.

В ходе поиска и исследования возможных метаболитов диола был обнаружен моноэпоксид (27), проявляющий выраженную противопаркинсоническую активность. Было установлено, что данный моноэпоксид способен проникать через гематоэнцефалический барьер.

В Лаборатории молекулярной нейронауки Института биотехнологии (Хельсинки) были исследованы свойства моноэпоксида 27 на способность увеличивать выживаемость культивируемых эмбриональных дофаминовых нейронов, а также защищать культивируемые клетки дофаминовых нейронов против 6-OHDA- индуцированной дегенерации (Sidorova, Y. A. et al, 2019).

Кроме того, в совместной работе с Институтом биотехнологии города Хельсинки было показано, что моноэпоксид диола стимулирует рост дофаминовых нейронов мозга животных с индуцированным паркинсоническим синдромом, увеличивая количество дофаминовых синапсов в стриатуме, что, вероятно, повысит содержание дофамина в полосатом теле и будет способствовать облегчению симптомов болезни Паркинсона. То есть одним из возможных механизмов действия диола является способность его метаболита восстанавливать поврежденные дофаминергические нейроны головного мозга.

Проведенные исследования показали, что диол, являясь соединением растительного происхождения, обладает выраженной противопаркинсонической активностью в совокупности с низкой токсичностью, противосудорожным и обезболивающим эффектом.

Диол оказывает дофаминомиметическое и холинолитическое действия, уравнивая баланс данных нейромедиаторных структур головного мозга, который смещается при БП. Обнаруженный активный метаболит диола способствует выживаемости дофаминовых нейронов в тестах *in vitro*, а также

стимулирует рост дофаминовых нейронов мозга животных с индуцированным паркинсоническим синдромом, увеличивая количество дофаминовых синапсов в стриатуме.

Диол был допущен для прохождения первого этапа клинических испытаний в качестве противопаркинсонического средства, и в настоящий момент успешно их проходит.

Среди методов лечения боли наиболее распространен фармакологический с применением анальгетиков, которые включают в себя как опиоидные анальгетические средства, так и неопиодные. Парацетамол и препараты группы НПВС являются одними из наиболее назначаемых в лечебной практике.

Парацетамол обладает обезболивающими, за счет угнетения синтеза простагландинов, и жаропонижающими, снижая возбудимость центра терморегуляции гипоталамуса, свойствами. Точный механизм обезболивающего действия остается пока неопределенным (Kis V. et al., 2005). Парацетамол хорошо переносится и эффективен при легкой и умеренной боли, однако обладает выраженной гепатотоксичностью при превышении рекомендуемой дозы (Larson A.M., 2007).

Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) обычно используют для контроля острой и хронической боли, и эффективны у пациентов с умеренной и сильной болью. НПВС опосредуют противовоспалительный эффект, ингибируя ферменты ЦОГ-1 и ЦОГ-2, что приводит к угнетению биосинтеза медиаторов воспаления - простагландинов из арахидоновой кислоты. Также имеются данные, что антиноцицептивное действие НПВС может быть опосредовано через эндогенную опиоидную систему (Torri G., et al, 1995; Suganuma T., et al, 1998).

Аспирин (ацетилсалициловая кислота) ковалентно модифицирует ЦОГ-1 и ЦОГ-2, необратимо ингибируя активность циклооксигеназы. Это важное отличие аспирина от других препаратов класса НПВС, потому что

продолжительность его действия напрямую связана со скоростью оборота циклооксигеназ в различных тканевых мишенях (Muhammad A. et al, 2009). Помимо ингибирования циклооксигеназ ацетилсалициловая кислота блокирует синтез тромбоксана A₂, что приводит к необратимому подавлению агрегации крови и расширению кровеносных сосудов.

Опиоидные анальгетики используются для лечения боли, не поддающейся терапии другими видами анальгетиков. Механизм действия опиоидных анальгетиков опосредован через опиоидные рецепторы спинного и головного мозга. Побочные эффекты опиоидов хорошо известны и включают в себя угнетение дыхания, тошноту, седацию, эйфорию (Joranson D.E. et al, 2000). Участие опиоидной системы в механизме действия приводит к развитию серьезного побочного эффекта в виде физической зависимости (Porter J., Jick H., 1980).

Перечисленные выше классы анальгетиков больше подходят для купирования острой боли, в связи с тем, что длительное их применение, которое требуется для лечения хронического болевого синдрома, приводит к развитию серьезных побочных эффектов.

Кроме того, в медицинской практике в качестве анальгезирующих средств применяются препараты с различными механизмами действия. Так, в терапии нейропатической боли применяются трициклические антидепрессанты и селективные ингибиторы обратного захвата серотонина. Их обезболивающее действие развивается быстрее и при более низких дозах, чем это требуется для достижения антидепрессивного эффекта. Основным механизмом из обезболивающего действия связан с ингибированием обратного захвата моноаминов (норадреналина и серотонина) и взаимодействием с эндогенными опиоидами.

Для лечения нейропатических болей используются противосудорожные препараты, снижающие эктопическую активность

нейронов и стабилизирующие мембраны нейрональных клеток путем модуляции управляемого напряжения Na^+ или Ca^+ каналов.

Одними из эффективных обезболивающих средств являются препараты, опосредующие механизм действия через центральные каннабиноидные рецепторы. В ряде стран такие препараты разрешены к использованию, но в большинстве приравниваются к наркотическим средствам, что очень ограничивает их применение.

Миорелаксанты используются в терапии миалгий и заболеваний опорно-двигательного аппарата, включая хроническую боль в пояснице. Данная группа препаратов подразделяется на антиспастические и спазмолитические лекарственные средства. Антиспастические средства действуют на уровне спинного мозга или скелетных мышц, уменьшая мышечный гипертонус и облегчая непроизвольные судороги. Спазмолитики уменьшают мышечный спазм, действуя на проводимость через центральную нервную систему.

Часто для достижения максимального обезболивающего эффекта применяется комбинированная (мультимодальная) терапия, которая объединяет анальгетики двух или более классов лекарственных средств или других методов лечения, что позволяет одновременно воздействовать на разные болевые пути (периферические и/или центральные), достигая синергического эффекта при более низких дозах применяемых препаратов.

Ненадлежащее лечение острой боли часто приводит к развитию боли хронической (Dahl J. B., Moiniche S., 2004), которая намного сложнее поддается фармакологической коррекции. Снятие острого болевого синдрома требует применения анальгетика с быстрым началом действия и продолжительным временем действия. Терапия же хронической боли требует применения анальгетических средств, обладающих низкой токсичностью и отсутствием выраженных побочных эффектов.

Идеальное обезболивающее лекарственное средство должно обладать следующими свойствами:

1. Быстрое начало действия
2. Длительная продолжительность действия
3. Минимизация прерывания болью
4. Широкий диапазон обезболивающего действия.
5. Эффективность в различных популяциях пациентов
6. Хороший профиль переносимости (низкая токсичность и минимум побочных эффектов).

Такое сочетание важнейших характеристик даже при присутствующем на фармацевтическом рынке разнообразии анальгетических лекарственных средств кажется недостижимым, поэтому вопрос о разработке «идеального анальгетика» остается одной из актуальных задач современной фармакологии.

В ходе проделанной работы были проведены скрининговые исследования на выявление анальгетической активности среди 42-х впервые синтезированных соединений.

В ряду соединений, сочетающих в своей химической структуре *пара*-ментановый и ароматический фрагменты, полученных путем взаимодействия (1*R*,2*R*,6*S*)-3-метил-6-(проп-1-ен-2-ил)циклогекс-3-ен-1,2-диола и эпоксид вербенола с ароматическими альдегидами, были обнаружены три наиболее перспективных агента (**44**, **45**), проявивших выраженную анальгетическую активность в дозе 10 мг/кг в обоих скрининговых тестах: «уксусные корчи» и «горячая пластина».

В ряду аналогичных соединений, содержащих гетероароматические (фурановые и тиофеновые) заместители, синтезированные исходя из монотерпеноида изопулегола, также было выявлено наиболее активное соединение **54** (10 мг/кг), достоверно снизившее количество корчей,

вызванных внутрибрюшинным введением уксусной кислоты, и увеличивающее латентное время пребывания животных на горячей пластине.

В ряду соединений, сочетающих диазаадамантовый и монотерпеноидный фрагменты, выраженную анальгетическую активность в обоих скрининговых тестах проявило соединение **66** (20 мг/кг), полученное на основе монотерпеноида (-)-миртеналя.

Для всех активных соединений (**44**, **45**, **54**, **66**) была определена острая токсичность. LD₅₀ составила более 1000 мг/кг, что относит данные соединения согласно отечественному ГОСТу 12.1.007-76 «Классификация и общие требования безопасности» к препаратам умеренно опасным – 3-му классу опасности.

Исследование влияния дозы соединений **44**, **45**, **54**, **66** на проявление данными веществами анальгетической активности в скрининговых тестах «уксусные корчи» и «горячая пластинка» показало, что соединения **44**, **45** и **66** проявляют прямой дозозависимый эффект, и с понижением дозы вводимого вещества анальгетическая активность исчезает. А соединение **54** показало куполообразный дозозависимый эффект и наиболее выраженную анальгетическую активность проявило при введении в дозах 1 и 5 мг/кг, одновременно снижая количество корчей, вызванных введением уксусной кислоты, и увеличивая латентное время нахождения животных на горячей пластине. С увеличением дозы соединения **54** до 10 и 20 мг/кг сохраняется анальгетическая активность в тесте «уксусные корчи», но исчезает в тесте «горячая пластинка». С понижением дозы соединения **54** до 0,5 мг/кг анальгетический эффект полностью исчезает в обоих тестах. Для дальнейших исследований соединение **54** использовалось в дозах 1 и 10 мг/кг.

Кроме того, соединение **54** (1 мг/кг) сохранило свою анальгетическую активность и при парентеральных способах введения. В дозе 1 мг/кг при внутривенном введении соединение **54** проявляет выраженную

анальгетическую активность уже через 15 мин после введения агента, которая сохраняется на протяжении как минимум 24 ч.

В тесте «открытое поле» соединение **44** (10 мг/кг) оказало угнетающее действие на все параметры двигательной-исследовательской активности животных, а его изомер **45** (10 мг/кг) и соединение **66** (20 мг/кг) достоверно снижали лишь скорость животных и пройденную ими дистанцию. Соединение **54** (1 и 10 мг/кг) достоверного влияния на показатели двигательной-исследовательской активности животных не оказало.

Исследование противовоспалительной активности для соединений **44**, **45**, **54** и **66** показало, что исследуемые агенты не оказывают достоверного влияния на развитие отека, вызванного введением формалина (3%) в подошвенный апоневроз стопы животных, то есть не проявляют противовоспалительной активности.

При исследовании вовлеченности опиоидной и каннабиноидной системы обнаружили, что в анальгетический ответ всех исследуемых соединений **44**, **45**, **54**, **66** вовлечены каннабиноидные рецепторы, а механизм анальгетического действия соединения **44** опосредован еще и через опиоидные рецепторы центральной нервной системы. То есть положение метоксигруппы в фенильном кольце изомеров **44** и **45** оказывает решающее влияние на механизм анальгетического действия, вовлекая в анальгетический ответ различные рецепторы: каннабиноидные для соединения **45** и, по крайней мере, частично, опиоидные для соединения **44**.

Дальнейшие исследования проводили для трех соединений **45**, **54** и **66**.

Изучение предположительного механизма анальгетического действия соединений **45**, **54** и **66** показало, что в анальгетический ответ данных агентов помимо каннабиноидной системы вовлечены и другие нейромедиаторные структуры центральной нервной системы. Соединение **45**, вероятно, опосредует анальгетический механизм еще и через 5-HT₃-серотониновые, α 2-адреналиновые и D₂-дофаминовые рецепторы ЦНС. В

механизм анальгетического действия соединения **54**, могут быть вовлечены мускариновые и дофаминовые рецепторы, а для соединения **66** возможно вовлечение мускариновых рецепторов.

Совместно с Институтом биохимии и молекулярной медицины (Берн, Швейцария) были проведены исследования *in vitro*, в которых установили, что соединения **45** и **54** в концентрации 10 мкМ не связываются с каннабиноидными рецепторами CB₁. Но соединение **45** (10 мкМ) незначительно взаимодействует с каннабиноидным рецептором CB₂ (Li-Zhulanov N.S. et al, 2019). Полученные данные дают основания предполагать, что исследуемые соединения **45** и **54**, вероятно, проявляют анальгетическое действие посредством активации эндоканнабиноидной системы.

Оценка ulcerогенного действия исследуемых соединений показала, что внутрижелудочное введение соединений **45**, **54** и **66** не вызывает повреждения слизистой оболочки желудка, а значит, не оказывают гастротоксичного действия.

Результаты проведенных исследований показали, что впервые синтезированные на основе монотерпеноидов соединения обладают выраженной анальгетической активностью и низкой токсичностью, что делает их перспективными для дальнейших исследований в качестве обезболивающих средств.

ВЫВОДЫ

1. В результате проведенного фармакологического скрининга среди кислородсодержащих производных пара-ментанового ряда было выбрано перспективное соединение - диол, обладающее выраженной противопаркинсонической активностью, низкой токсичностью а также проявляющее высокую анальгетическую и противосудорожную активность. Впервые установлено, что абсолютная конфигурация диола и наличие всех четырех функциональных групп оказывает решающее влияние на его противопаркинсоническую активность.

2. Установлено, что диол проявляет дофаминомиметическое и холинолитическое действия, тем самым восстанавливая нарушенный нейромедиаторный баланс центральной нервной системы.

3. Впервые показано, что диол проявляет выраженную противопаркинсоническую активность в дозе 20 мг/кг *per os* при различных схемах введения (от однократного до 30-дневного). Установлено, что длительное (30 дней) внутрижелудочное введение диола крысам в дозе 20 мг/кг не вызывает токсических изменений в жизненно важных органах и системах.

4. Установлено, что обнаруженный активный метаболит диола способствует выживаемости дофаминовых нейронов в тестах *in vitro*, а также достоверно увеличивает количество дофаминовых синапсов в стриатуме, стимулируя рост дофаминовых нейронов мозга животных с индуцированным паркинсоническим синдромом.

5. По результатам проведенного фармакологического скрининга в ряду производных монотерпеноидов были выбраны несколько соединений (44, 45, 54, 66), обладающих выраженной анальгетической активностью одновременно в тестах "уксусные корчи" и "горячая пластина" и низкой токсичностью (LD₅₀ составила более 1000 мг/кг).

6. Установлено, что соединения **45, 54 и 66** не оказывают влияния на опиоидные рецепторы. Положение метоксигруппы в фенильном кольце изомеров **44 и 45** оказывает решающее влияние на механизм анальгетического действия, вовлекая в анальгетический ответ различные рецепторы: каннабиноидные для соединения **45** и опиоидные для соединения **44**.

7. Установлено, что соединения **45, 54 и 66** задействуют в механизме анальгетического действия каннабиноидную систему и другие нейромедиаторные структуры головного мозга: 5-HT₃-серотониновые, α 2-адреналиновые и D₂-дофаминовые рецепторы для соединения **45**; мускариновые и дофаминовые рецепторы для соединения **54** и мускариновые рецепторы для соединения **66**.

8. Установлено, что соединения **45, 54 и 66** не оказывают угнетающего действия на двигательную-исследовательскую активность животных, не оказывают раздражающего влияния на слизистую оболочку желудка крыс.

9. На основании вышеизложенного диол может быть предложен для дальнейшей разработки противопаркинсонического препарата. Соединения **45, 54 и 66** представляют интерес для дальнейших доклинических исследований в качестве высокоэффективных и низкотоксичных анальгетиков.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

2-АГ – 2-арахидонилглицерин

АД – артериальное давление

АДР – агонист дофаминовых рецепторов

БП – болезнь Паркинсона

ГАМК – гамма-амино масляная кислота

ГЗК – ганглии задних корешков

ГМ – головной мозг

ГЭБ – гемато-энцефалический барьер

ДОФА - дигидрооксифенилаланин

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

КОМТ – катехол-О-метилтрансфераза

ПНС – периферическая нервная система

ЦНС – центральная нервная система

МФТП – 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин

МАО – моноаминооксидаза

НИИ – научно исследовательский институт

НПВС – нестероидные противовоспалительные средства

ОР – опиоидные рецепторы

ПС – паркинсонический синдром

ССС – сердечно-сосудистая система

ТГК – тетрагидроканнабинол

ЦОГ – циклооксигеназа

ЧСС – частота сердечных сокращений

ЭК – эндоканнабиноидный

ЭС – эндоканнабиноидная система

АЕА - анадамид

ФААН – гидролаза амидов жирных кислот

MAGL – моноацилглицерол липаза

MAPK – митоген-активированные протеинкиназы

NMDA – N-метил-D-аспартат

NOR – ноцицепти-орфановый фактор

OEA – олеоилэтаноламин

6-OHDA – 6-гидроксидофамин

PEA – пальмитоилэтаноламин

PTZ – пентилентетразол

TRP – транзиторийный рецепторный потенциал

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антоненко, Г.Г. Эндогенная каннабиноидная система – новый перспективный объект фармакотерапевтического воздействия при болезнях нервной системы. / К.Л. Юрьев.// Украинский Медицинский Журнал. – 2005. – Т. 6. – С. 21-29.
2. Вейн, А.М. Фармакология Боли. / А.Г. Филатов. // Русский медицинский журнал. – 1999. – №.9. – С. 410-418.
3. Венгеровский, А.И. Лекции по фармакологии для врачей и провизоров. – 3-е изд. // М.: ИФ "Физико-математическая литература," – 2007. – 704 с.
4. Воронина, Т.А. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. / Е.А.Вальдман, Л.Н. Неробкова. // М: Медицина. – 2000. – С. 157.
5. Головина С.М., Влияние антидепрессантов на судорожное действие теосемикарбозида, стрихнина и коразола. / Н.И. Андреева // Бюлл. Экспер. биол. и мед. – 1986. – №9. – С. 290-292.
6. ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности (с Изменениями N 1, 2)
7. Даренская, Н.Г. Экстраполяция экспериментальных данных на человека в физиологии и радиологии. / И.Б. Ушаков. И.В. Иванов, Т.А. Насонова, И.Э. Есауленко, В.И. Попов // М.-Воронеж: ИСТОКИ. – 2004. – С. 232.
8. Иванова-Смоленская, И.А. Болезнь Паркинсона (фенотипический полиморфизм и современные подходы к лечению) / И.А. Иванова-Смоленская // Альманах клинической медицины. – 2005. – № 8–3. – С. 183–188.
9. Иллариошкин, С.Н. Современная концепция постоянной дофаминергической стимуляции / С.Н. Иллариошкин, Н.В. Федорова //

Болезнь Паркинсона и расстройства движений под ред. Иллариошкина С.Н., Яхно Н.Н. – М.: ООО Диалог, 2008. – 405 с.

10. Калинина, Т.С., Исследование антипаркинсонической активности панавира на модели паркинсонического синдрома, вызванного системным введением МФТП у аутобредных крыс и мышей линии C57Bl/6 / Л. Н. Неробкова, Т. А. Воронина и соавт. // Бюлл. Экспер. Биол. и Мед. – 2005. – Т. 140. – № 7. – С. 65-67.

11. Каминка Э. Я. Использование простагландинов в акушерстве. / Л.Ф. Рощина, М.Д. Машковский // Акуш. и гинек. – 1982. – №9. – С. 16-18.

12. Клодт, П. М. Изучение эффектов гептапептида селанка на содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга крыс Вистар. / В. С. Кудрин, В. Б. Наркевич и соавт. // Психофарм. и биол. наркология. – 2005. – Т. 5. – № 3. – С. 984-988.

13. Комарова, Т. Г. Участие мускариновых и никотиновых холинорецепторов преоптической области гипоталамуса в контроле терморегуляции и состояний бодрствования и сна у голубей *Columba Livia*. / И.В. Екимова, Ю.Ф. Пастухов. // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2007. – Т. 43. – № 4. – С. 332-336.

14. Кривошапкин, А.Л.. Физиология боли. Современные концепции и механизмы. Обзор иностранной литературы. // Боль и ее лечение. – 1997. – № 6. – С. 412-416.

15. Крыжановский, Г.Н. Болезнь Паркинсона (этиология, патогенез клиника, диагностика, лечение, профилактика) / Г.Н. Крыжановский, И.Н. Карабань, С. В. Магаева и др. –М.: Медицина, 2002. – 336 с.

16. Лаврецкая, Э.Ф. Фармакологическая регуляция психических процессов // М: Наука. – 1985. – С. 134.

17. Левин, О.С. Развитие моторных флуктуаций у больных с различными стадиями болезни Паркинсона // Атмосфера. Нервные болезни. – 2005. – № 1. – С. 10–16.

18. Левин, О.С. Как лечили болезнь Паркинсона в 2013 году / О.С. Левин // Современная терапия в психиатрии и неврологии. – 2013. – № 3–4. – С. 5–16.
19. Литвиненко, И.В. Боль и депрессия при болезни паркинсона: новые терапевтические возможности прамипексола. / М.М. Одинак, В.И. Могильная. // Жур. Невр. И психиат. – 2008. – № 11. – С. 36-38.
20. Литвиненко, И.В. Болезнь Паркинсона и синдромы паркинсонизма: учебное пособие / И.В. Литвиненко, А.Г. Труфанов, А.А. Юрин и др. – Казань: Бук, 2018. — 54 с.
21. Лишманов, Ю.Б. Взаимодействие μ -опиоидных рецепторов с ионными каналами и G-белками. / Л.Н. Маслов, Н.В. Соленкова. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2006. – Т. 69. – С. 62-74.
22. Лукьянова, Л. Д. О коррегирующем действии флавоноидсодержащего препарата «Экстралайф» на развитие Паркинсонического синдрома. / , З. И. Строжева, А. Т. Прошин. // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2007. – Т. 144. – №7. – С. 45-49.
23. Машковский, М. Д. Фармакология антидепрессантов. / Н.И. Андреева, А.И. Полежаева // М: Медицина. – 1983. – С. 203.
24. Машковский М. Д. Лекарственные средства – изд. 15 // М.: Новая волна, 2005. – С. 1200
25. Миронов, А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. // М.: Гриф и К. – 2013. С. 944.
26. Миронова, Ю.С. Болезнь Паркинсона и глутаматная эксайтотоксичность /Ю.С. Миронова, И.А. Жукова, Н.Г. Жукова и др. // Журнал неврологии и психиатрии. – 2018. – Т. 6. – № 2. – С. 50–54.
27. Михайлузова, О.И. Болезнь Паркинсона: этиология, патогенез, клиника, диагностика и принципы лечения. / В. А. Куташов. // Молодой ученый. – 2015. – №24. – С. 269-273.

28. Нестероидные противовоспалительные средства (Редакцию статья). / Клиническая фармакология и фармакотерапия - 1994. - Т. 3. - С. 6-7.
29. Обухова, А.В. Болезнь Паркинсона: диагностика и принципы терапии / А.В. Обухова // Медицинский совет. – 2014. – № 18. – С. 46–50.
30. Пугачева, В.С. Болезнь Паркинсона: распространенность заболевания с точки зрения медицинской статистики / В.С. Пугачева, С.М.Карпов, И.А.Вышлова и др. // Бюллетень науки и практики. – 2016. – № 5. – С. 193–204.
31. Раздорская, В.В. Болезнь Паркинсона в России: распространенность и заболеваемость (обзор) / В.В.Раздорская, О.Н.Воскресенская, Г.К. Юдина // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2016. – Т. 12. – № 3. – С. 379–384.
32. Сергеев, П.В. Рецепторы. / Р.Л. Шимановский. // М: Медицина. - 1987. – 396 с.
33. Сергутина, А. В. Влияние L-ДОФА на мозг в зависимости от индивидуальных особенностей поведения. / Л. М. Герштейн. // Жур. неврол. и психиатр. – 2004. – №12. – С. 56-59.
34. Слободин, Т.Н. Является ли болезнь Паркинсона не только нейродегенеративным, но и воспалительным заболеванием? / Т.Н.Слободин // Неврология и нейрохирургия. Восточная Европа. – 2018. – Т. 8. – № 4. – С. 609–615.
35. Толстикова, Т. Г. Новый высокоэффективный противосудорожный агент (4S,5R,6R)-п-Мента-1,8-диен-5,6-диол. / А. В. Павлова, М. П. Долгих и др. // Доклады Академии наук. – 2009. – Т. 429. – № 1. – С. 1–3.
36. Тринус, Ф.Н. Методы скрининга и фармакологического изучения противовоспалительных, анальгезирующих и жаропонижающих веществ (методические рекомендации). / Н.А. Мохорт, Б.М. Клебанов. // Киев: Здоров'я. – 1974. – С. 1-27.

37. Ускова, Н. В., Сопоставление ацеклидинового тремора с ареколиновым и никотиновым у крыс разного возраста. / Н.А. Антелова. // Фарм. и токсикол. – 1977. – №5. – С. 517-521.

38. Федорова, Н.В. Лечение болезни Паркинсона // Русский медицинский журнал.- 2001.- спецвыпуск. - С.24-33. Машковский, М. Д. Фармакология антидепрессантов. / Н. И. Андреева, А. И. Полежаева. // М: Медицина. – 1983. – С. 203.

39. Федорова, Н.В. Болезнь Паркинсона: диагностика и лечение / Н.В. Федорова // Современная терапия в психиатрии и неврологии. – 2016. – № 1. – С. 13–17.

40. Федорова, Н.В. Опыт применения прамипексола в лечении болезни Паркинсона / Н.В.Федорова, Т.К. Кулуа // Cons. Med. – 2007. – Т. 9 – № 2. – С. 103–107.

41. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых лекарственных веществ. // М.: ОАО "Издательство "Медицина". - 2005, - 832 с.

42. Харкевич, Д.А. Фармакология. – 8-е изд. //– М.: «ГЭОТАР – Медиа», 2005.

43. Шавловская, О.А. Качество жизни пациентов с болезнью Паркинсона на фоне терапии агонистами дофаминовых рецепторов / О.А Шавловская// Ремедиум. – 2014. – №4. – С. 25–28.

44. Шнайдер, Н.А. Моногенные формы болезни Паркинсона / Н.А. Шнайдер, М.Р. Сапронова // Вестник КБ №51. – 2012. – Т. 5. – № 1–3. – С. 14–19.

45. Юров, И.В. Применение препарата амантадина гидрохлорид у пациентов с болезнью Паркинсона в контексте рациональной фармакотерапии / И.В. Юров // Украинский вестник психоневрологии. – 2012. – Т. 20. – № 2(71). – С. 50–52.

46. Adams-Carr, K.L. Constipation preceding Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis / K.L. Adams-Carr, J.P. Bestwick, S. Shribman et al. // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. – 2016. – V. 87(7). – P. 710–716.
47. Adamson Barnes, N.S. Actions of the dual FAAH/MAGL inhibitor JZL195 in a murine neuropathic pain model. / V.A. Mitchell, N.P. Kazantzis, C.W. Vaughan. // Br. J. Pharmacol. – 2016. – V. 173. – P. 77–87.
48. Ahn, K. Discovery and characterization of a highly selective FAAH inhibitor that reduces inflammatory pain. // D.S. Johnson, M. Mileni, D. Beidler et al. // Chemistry & Biology. – 2009. – V. 16. – P. 411–420.
49. Ahn, K. Mechanistic and pharmacological characterization of PF-04457845: a highly potent and selective fatty acid amide hydrolase inhibitor that reduces inflammatory and noninflammatory pain. // N. Sadagopan, D.T. Dudley, T. Young et al. // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2011. – V. 338. – P. 114–124.
50. Al- Burtamani, S.K.S. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the essential oil of *Haplophyllum tuberculatum* from Oman. //M.O. Fatope, R.G. Marwah, A.K. Onifade et al. // J. Ethnopharmacol. - 2005. - V. 96(1-2). - P. 107-112.
51. Alhouayek, M. Harnessing the anti-inflammatory potential of palmitoylethanolamide. / G.G. Muccioli. // Drug Discov. Today. – 2014. – V. 19(10). – P. 1632-1639.
52. Alkaitis, MS. Evidence for a Role of Endocannabinoids, Astrocytes and p38 Phosphorylation in the Resolution of Postoperative Pain. / C. Solorzano, R.P. Landry, D. Piomelli et al. // PLoS ONE. – 2010. – V. 5. – P. e10891.
53. Amaral, J.F. Antinociceptive effect of the monoterpene R-(+)-limonene in mice. / M.I.G. Silva, M.R.A. Neto, P.F.T. Neto, et al. // Biol. Farm. Bull. – 2007. – V. 30 (7). – P. 1217-1220.

54. Ambrosi, G. A further update on the role of excitotoxicity in the pathogenesis of Parkinson's disease / G.Ambrosi, S.Cerri, F.Blandini // *J. Neural Transm. (Vienna)*. – 2014. – V. 121(8). – P. 849–859.
55. Amin, M. R. Pharmacology of medical cannabis. / D.W. Ali. // *Res. Adv. Can. Physiol. Path.* - 2019. - P. 151-165.
56. Aminoshariae, A. Acetaminophen: old drug, new issues. / A. Khan. // *J. Endod.* – 2015. – V. 41. – P. 588-593.
57. Amorim J.L. Anti-Inflammatory Properties and Chemical Characterization of the Essential Oils of Four Citrus Species. / D.L.R. Simas, M.M.G. Pinheiro, D.S.A. Moreno. // *PLOSone*. - 2016. - V. 11(4). - P. e0153643.
58. Andersen, H.H. High-Concentration L-Menthol Exhibits Counter-Irritancy to Neurogenic Inflammation, Thermal and Mechanical Hyperalgesia Caused by Trans-cinnamaldehyde. / P. Gazerani, L. Arendt-Nilsen. // *J. Pain.* - 2016. - V. 17(8). - P. 919-929.
59. Antonini, A. Fibrotic heart-valve reactions to dopamine-agonist treatment in Parkinson's disease / A. Antonini, W. Poewe // *Lancet Neurol.* – 2007. – V. 6(9). – P. 826–829.
60. Antonini, A. Role of pramipexole in the management of Parkinson's disease / A. Antonini, P. Barone, R. Ceravolo et al. // *CNS Drugs.* – 2010. – V. 24(10). – P. 829–841.
61. Aoshima, H. Potentiation of GABAA receptors expressed in *Xenopus* oocytes by perfume and phytoncid. / K. Hamamoto. // *Biosci. Biotech. Biochem.* – 1999. – V. 63. – P. 743-748.
62. Ardashov, O.V. A Novel Small Molecule Supports the Survival of Cultured Dopamine Neurons and May Restore the Dopaminergic Innervation of the Brain in the MPTP Mouse Model of Parkinson's Disease. / A. V. Pavlova, A. K. Mahato, Y. Sidorova, et al. // *ACS Chem. Neurosci.* – 2019. – V. 10. – P. 4337–4349.

63. Asanova, Zh.K. Biological activity of 1,8-cineole from levant wormwood. / E.M. Suleimenov, G.A. Atazhanova, A.D. Dembitskii, et al. // Pharmaceutical Chemistry J. – 2003. – V. 37 (1). – P. 28-30.

64. Asanuma, M. Quinone formation as dopaminergic neuron-specific oxidative stress in the pathogenesis of sporadic Parkinson's disease and neurotoxin-induced parkinsonism / M. Asanuma, I. Miyazaki, F.J. Diaz-Corrales et al. // Acta Med. Okayama. – 2004. – V. 58(5). – P. 221–233.

65. Attal, N. Neuropathic pain: are there distinct subtypes depending on the aetiology or anatomical lesion? / C. Fermanian, J. Fermanian, M. Lanteri-Minet et al. // Pain. – 2008. – V. 138. – P. 343-353.

66. Avgustinovich, D. F. Effect of 2-aminoadamantane derivatives on behavior of mice in a modified light/dark test. / M.K. Fomina, E.V. Suslov, T.G. Tolstikova, K.P. Volcho, N.F. Salakhutdinov // Bull. Exp. Biol. Med. – 2014. – V. 158 (2). – P. 213-218.

67. Axelrod, J. O-methylation of epinephrine and other catechols *in vitro* and *in vivo*. // Science. – 1957. – V. 126 (3270). – P. 400-401.

68. Badillo-Ramírez, I. 5-S-cysteinyl-dopamine, a neurotoxic endogenous metabolite of dopamine: implications for Parkinson's disease / I. Badillo-Ramírez, J.M. Saniger, S. Rivas-Arancibia // Neurochem. Int. – 2019. – V. 129. – P. 104514.

69. Bair, M.J. Depression and pain comorbidity: a literature review. / R.L. Robinson, W. Katon, K. Kroenke. // Arch. Intern. Med. – 2003. – V. 163. – P. 2433-2445.

70. Bardin, L. Serotonin receptor subtypes involved in the spinal antinociceptive effect of 5-HT in rats. / L. Bardin, J. Laverenne, A. Eschaliér. // Pain. – 2000. – V. 86. P. 8–11.

71. Barocelli, E. Antinociceptive and gastroprotective effects of inhaled and orally administered *Lavandula hybrida* Reverchon “Grosso” essential oil. / F. Calcina, M. Chiavarini, M. Impicciatore, et al. // Life Sciences. – 2004. – V. 76. – P. 213-223.

72. Barone, P. Pramipexole for the treatment of depressive symptoms in patients with Parkinson's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial / P. Barone, W. Poewe, S. Albrecht et al. // *Lancet Neurol.* – 2010. – V. 9(6). – P. 573–580.

73. Baron, R. Peripheral neuropathic pain: a mechanism-related organizing principle based on sensory profiles. // C. Maier, N. Attal, A. Binder et al. // *Pain.* – 2017. – V. 158. – P. 261-272.

74. Bartels, A.L. Parkinson's disease: the syndrome, the pathogenesis and pathophysiology / K.L. Leenders // *Cortex.* – 2009. – V. 45(8). – P. 915–921.

75. Batista, P.A. Evidence for the involvement of ionotropic glutamatergic receptors on the antinociceptive effect of (–)-linalool in mice. / M.F.P. Werner, E.C. Oliveira, L. Burgos, et al. // *A.R.S. Neuroscience Letters.* – 2008. – V. 440. – P. 299- 303.

76. Batista, P.A. The Antinociceptive effect of (–)-Linalool in models of chronic inflammatory and neuropathic hypersensitivity in mice. / M.F.P. Werner, E.C. Oliveira, L. Burgos, et al. // *A.R.S. The Journal of Pain.* – 2010. – V. 11. – P. 1222-1229.

77. Beal, M.F. Mitochondria take center stage in aging and neurodegeneration / M.F. Beal // *Ann. Neurol.* – 2005. – V. 58(4). – P. 495–505.

78. Berg, D. MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease. / R.B. Postuma, C.H. Adler, B.R. Bloem et al. // *Mov. Disord.* - 2015. - V. 30(12). - P. 1600-1611.

79. Berliochi, L. Toxic profile of bergamot essential oil on survival and proliferation of SH-SY5Y neuroblastoma cells. // A. Ciociaro, R. Russo, M.J.V. Cassiano. // *Food and Chem. Toxicology.* - 2011. - V. 49(11). - P. 2780-2792.

80. Bianchine, J.R. Peripheral aromatic L-amino acids decarboxylase inhibitor in parkinsonism. II. Effect on metabolism of L-2-14C-DOPA / J.R. Bianchine, F.S. Messiha, T.H.Hsu // *Clin.Pharmacol.Ther.* – 1972. – V. 13(4). – P. 584–594.

81. Bighetti, E.J.B. Anti-inflammatory and antinociceptive effects in rodents of essential oil of croton cajucara Benth. / C.A. Hiruma-Lima, J.S. Gracioso, A.R.M.S. Brito. // J. Pharm. Pharm. - 2000. - V. 51(12). - P. 1447-1453.

82. Bihel, F. Development of a Peptidomimetic Antagonist of Neuropeptide FF Receptors for the Prevention of Opioid-Induced Hyperalgesia. / J-P. Humbert, S. Schneider, I. Bertin, et al. // ACS Chem. Neurosci. – 2015. – V. 6. – P. 438–445.

83. Bisaglia, M. Molecular characterization of dopamine-derived quinones reactivity toward NADH and glutathione: implications for mitochondrial dysfunction in Parkinson disease / M. Bisaglia, M.E. Soriano, I. Arduini et al. // Biochim. Biophys. Acta. – 2010. – V. 1802(9). – P. 699–706.

84. Bjørklund, G. Metals and Parkinson's disease: mechanisms and biochemical processes / G. Bjørklund, V. Stejskal, M.A. Urbina et al. // Curr. Med. Chem. – 2018. – V. 25(19). – P. 2198–2214.

85. Bjørklund, G. Iron and other metals in the pathogenesis of Parkinson's disease: Toxic effects and possible detoxification / G. Bjørklund, T. Hofer, V.M. Nurchiet al. // J. Inorg. Biochem. – 2019. – V. 199. – P.110717.

86. Blankman, J.L. A comprehensive profile of brain enzymes that hydrolyze the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. // G.M. Simon, B.F. Cravatt. // Chemistry & Biology. – 2007. – V. 14. – P. 1347–1356.

87. Block, M.L. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms /M.L. Block, L. Zecca, J.S.Hong // Nat. Rev.Neurosci. – 2007. – V. 8(1). – P. 57–69.

88. Bonjardim, L.R. Evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive properties of p-cymene in mice. / E.S. Cunha, A.G. Guimaraes, M.F. Santana, et al. //. Naturforsch. – 2012. – V. 67. – P. 15-21.

89. Booker, L. Valuation of prevalent phytocannabinoids in the acetic acid model of visceral nociception. / L. Booker, P.S. Naidu, R.K. Razdan et al // Drug. Alc. Dep. - 2009. - V. 105. - P. 42-47.

90. Booker, L. The fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibitor PF-3845 acts in the nervous system to reverse LPS-induced tactile allodynia in mice. / S.G. Kinsey, R.A. Abdullah, J.L. Blankman et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 2012. – V. 165(8). – P. 2485-2496.
91. Bose, A. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease / A. Bose, M.F. Beal // *J. Neurochem.* – 2016. – V. 139. – Suppl. 1. – P. 216–231.
92. Bouhassira, D. Development and validation of the neuropathic pain symptom inventory. / N. Attal, J. Fermanian, H. Alchaar et al. // *Pain.* – 2004. – V. 108. – P. 248-257.
93. Boyle, A. Role of apomorphine in the treatment of Parkinson's disease / A. Boyle, W. Ondo // *CNS Drugs.* – 2015. – V. 29(2). – P. 83–89.
94. Braak, H. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease / H. Braak, K. Del Tredici, U. Rüb et al. // *Neurobiol. Aging.* – 2003. – V. 24(2). – P. 197–211.
95. Brito, R.G. Citronellol, a monoterpene alcohol, reduces nociceptive and inflammatory activities in rodents. / A.G. Guimaraes, J.S.S. Quintans, M.R.V. Santos, et al. // *J. Nat. Med.* – 2012. – V. 66. – P. 637-644.
96. Brocks, D.R. Anticholinergic drugs used in Parkinson's disease: an overlooked class of drugs from a pharmacokinetic perspective / D.R. Brocks // *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* – 1999. – V. 2(2). – P. 39–46.
97. Brodsky, M.A. Effects of a dopamine agonist on the pharmacodynamics of levodopa in Parkinson disease / M.A. Brodsky, B.S. Park, J.G. Nutt // *Arch. Neurol.* – 2010. – V. 67(1). – P. 27–32.
98. Brown, F. Studies on the mechanism of action of amantadine / F. Brown, P.H. Redfern // *Br. J. Pharmacol.* – 1976. – V. 58(4). – P. 561–567.
99. Brune, K. Acetaminophen/paracetamol: a history of errors, failures and false decisions. / B. Renner, G. Tiegs. // *Eur. J. Pain.* – 2015. – V. 19. – P. 953-965.

100. Buck, K. L-DOPA-induced dyskinesia in Parkinson's disease: a drug discovery perspective. / B Ferger. // *Drug Discovery Today*. – 2010. – V. 15. – P. 867-875.
101. Burns, R.S. The clinical syndrome of strial dopamine deficiency; parkinsonism induced by MPTP / R.S. Burns, P. Le Witt, M.H. Ebert et al. // *N. Engl. J. Med.* – 1985. – V. 312 – P. 1418–1421.
102. Buneeva, O.A. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease / O.A. Buneeva, A.E. Medvedev // *Biomed. Khim.* – 2011. – V. 57(3). – P. 246–281.
103. Burbulla, L.F. Dopamine oxidation mediates mitochondrial and lysosomal dysfunction in Parkinson's disease / L.F. Burbulla, P. Song, J.R. Mazzulli et al. // *Science*. – 2017. – V. 357(6357). – P. 1255–1261.
104. Bushlin, I. Cannabinoid-opioid interactions during neuropathic pain and analgesia. / R. Rozenfeld, L.A. Devi. // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2010. – V.10. – P. 80-86.
105. Busquets-Garcia, A. Differential role of anandamide and 2-arachidonoylglycerol in memory and anxiety-like responses. / E. Puighermanal, A. Pastor, R. de la Torre et al. // *Biological Psychiatry*. – 2011. – V. 70. – P. 479–486.
106. Caccia, C. Safinamide: modulation of dopaminergic and glutamatergic systems / C. Caccia, P. Salvati, S. Rossetti et al. // *Mov. Disord.* – 2008. – V. 23. – P. S22-S23.
107. Calignano, A. Control of pain initiation by endogenous cannabinoids. / G. La Rana, A. Giuffrida, D. Piomelli. // *Letters to Nature*. – 1998. – V. 394. – P. 277–281.
108. Cang, H.-J. Quantitative structure-activity relationship (QSAR) for neuroprotective activity of terpenoids. / H.J. Kim, H.S. Chum. // *Life Sci.* – 2007. – V. 80. – P. 835-841.

109. Carey, L.M. A pronociceptive phenotype unmasked in mice lacking fatty-acid amide hydrolase. / R.A. Slivicki, E. Leishman, B. Cornett et al. // *Molecular Pain*. – 2016. – V. 12. – P. 1-23.

110. Carter, G. T. Side effects of commonly prescribed analgesic medications. /, V. Duong, S. Ho, K.C. Ngo, et al. // *Phys. Med. Rehabil. Clin. N. Am.* – 2014. – V. 25. – P. 457–470

111. Cavichioli, F.J. Anti-hyperalgesic effects of two sphingosine derivatives in different acute and chronic models of hyperalgesia in mice. / G.N.B. Bernal, I. Holzmann, J.B. Klein et al. // *Pharmacol. Reports*. - 2018. - V. 70(4). - P. 753-759.

112. Cattaneo, C. Pressor response to intravenous tyramine in healthy subjects after safinamide, a novel neuroprotectant with selective, reversible monoamine oxidase B inhibition / C. Cattaneo, C. Caccia, A. Marzo et al. // *Clin. Neuropharmacol.* – 2003. – V. 26(4). – P. 213–217.

113. Chanda, P.K. Monoacylglycerol lipase activity is a critical modulator of the tone and integrity of the endocannabinoid system. / Y.. Gao, L Mark, J. Btresh et al. // *Molecular Pharmacology*. – 2010. – V. 78. – P. 996–1003

114. Chang, L. Inhibition of fatty acid amide hydrolase produces analgesia by multiple mechanisms. / L. Luo, J.A. Palmer, S. Sutton et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 2006. – V. 148. – P. 102–113.

115. Chapman, C.R. Pain perception and assessment // *Minerva Anesthesiol.* – 2005. – V. 71. – P. 413-417

116. Chaudhuri, K.R. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management / K.R. Chaudhuri, D.G. Healy, A.H.V. Schapira // *Lancet. Neurol.* – 2006. – V. 5. – P. 235-245.

117. Chauhana, R.S. Chemical composition of capillene chemotype of *Artemisia dracunculus* L. from North-West Himalaya, India. / S. Kitchlua, G. Rama, M.K. Kaula, Tava Aldo. // *Industrial Crops and Products*. – 2010. – V. 31. – P. 546-549.

118. Chen, J.J. Comprehensive review of rasagiline, a second-generation monoamine oxidase inhibitor, for the treatment of Parkinson's disease /J.J. Chen, D.M. Swope, K. Dashtipour // Clin. Ther. – 2007. – V. 29(9). – P. 1825–1849.

119. Chen, X.H. The orally combined neuroprotective effects of sodium ferulate and borneol against transient global ischemia in C57BL/6J mice. / Z.Z. Lin, A.M. Liu, J.T. Ye, et al. // Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 2010. – V. 62. – P. 915-923.

120. Choi, Y.M. Etifoxine for pain patients with anxiety. / K.H. Kim. // Korean J. Pain. – 2015. – V. 28. – P. 4-10.

121. Chung, Y.C. The role of neuroinflammation on the pathogenesis of Parkinson's disease / Y.C. Chung, H.W. Ko, E. Bok et al. // BMB Rep. – 2010. – V. 43(4). – P. 225–232.

122. Clapper, J.R. Anandamide suppresses pain initiation through a peripheral endocannabinoid mechanism. / G. Moreno-Sanz, R. Russo, A. Guijarro et al. // Nature Neuroscience. – 2010. – V. 13(10). – P. 1265-1270.

123. Coderre T.J. Evidence that gabapentin reduces neuropathic pain by inhibiting the spinal release of glutamate. / N. Kumar, C.D. Lefebvre, J.S.Yu. // J. Neurochem. – 2005. – V. 94(4). – P. 1131–1139.

124. Collier, H.O. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in mouse. / L.C. Dinneen C.A. Johnson, C. Schneider. // Br. J. Pharmacol. - 1968. – V. 32. – P. 295–310.

125. Connolly, B. S. Pharmacological treatment of Parkinson disease. A review. / A. E. Lang. // JAMA. – 2014. – V. 311 (16). – P. 1670-1683.

126. Corbett, A.D. 75 years of opioid research: the exciting but vain quest for the Holy Grail. / G. Henderson, A.T. McKnight, S.J. Paterson. // Br. J. Pharmacol. – 2006. – V. 147 – P. 153-162.

127. Corvalan, N.A. Stereo-selective activity of menthol on GABAA receptor. / J.A. Zygodlo, D.A. Garcia. // Chirality. – 2009. – V. 21. – P. 525-530.

128. Costa, D.A. Anticonvulsant and antioxidant effects of cyano-carvone and its action on acetylcholinesterase activity in mice hippocampus. / G.A. de Oliveira, T.C. Lima, P.S. dos Santos, et al. // *Cell. Mol. Neurobiol.* – 2012. – V. 32. – P. 633- 640.
129. Craft, R.M. Sex differences in locomotor effects of morphine in the rat. / R.M. Craft, J.L. Clark, S.P. Hart // *Pharm. Biochem. Behav.* - 2006/ - V. 85. - P. 850-858
130. Cravatt, B.F. Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides. / D.K. Giang, S.P. Mayfield, D.L. Boger et al. // *Nature.* – 1996. – V. 384. – P. 83–87.
131. Crosby, N.J. Amantadine for dyskinesia in Parkinson's disease. / K.H.O. Deane, C.E. Clarke. // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2003. – V (2). P. CD003467.
132. Cui, M. The organic cation transporter-3 is a pivotalmodulator of neurodegeneration in the nigrostriatal dopaminergic pathway. / R. Aras, W.V. Christian, P.M. Rappold, et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2009. – V. 106. – P. 8043–8048.
133. Dahl, J.B. Pre-emptive analgesia. / S. Moiniche. // *Br. Med. Bull.* – 2004. – V. 71. – P. 13-27.
134. Danelich, I.M. Safety of nonsteroidal antiinflammatory drugs in patients with cardiovascular disease. / S.S. Wright, J.M. Lose, B.J. Tefft et al. // *Pharmacotherapy.* – 2015. – V. 35. – P. 520- 535.
135. Danysz, W. Aminoadamantanes as NMDA receptor antagonists and antiparkinsonian agents – preclinical studies / W. Danysz, C.G. Parsons, J. Kornhuberet al. // *Neurosci. Biobehav. Rev.* – 1997. – V. 21(4). – P. 455–468.
136. De Almeida, R.N. Anticonvulsant effect of a natural compound , - epoxy-carvone and its action on the nerve excitability. / D.P. de Sousa, F.F. Nobrega, F.S. Claudino. // *Neurosci. Lett.* – 2008. – V. 443 (1). – P. 51-55.

137. De Almeida, R.N. Essential oils and their constituents: anticonvulsant activity. / A.M. de Fatima, F.N. Souto Maior, D.P. Sousa. // *Molecules*. – 2011. – V. 16. – P. 2726-2742.
138. De Germay, S. Atropinic (anticholinergic) burden in Parkinson's disease / S. De Germay, J.L. Montastruc, V. Rousseau et al. // *Mov.Disord.* – 2016. – V. 31(5). – P. 632–636.
139. Delaquis, P.J. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. // K. Stanich, B.Girard, G. Mazza. // *Int. J. Food. Microbiol.* - 2002. - V. 74(1-2). - P. 101-109.
140. De Oliveira, M.G. γ -Terpineol reduces mechanical hypernociception and inflammatory response. / R.B. Marques, M.F. de Santana, A.B. Santos, et al. // *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* – 2012. V. 111 (2). – P. 120-125.
141. De Sousa, D.P. Study of anticonvulsant effect of citronellol, a monoterpene alcohol, in rodents. / J.C.R. Goncalves, L. Quantans-Junior, J.S. Crus, et al. // *Neuroscience Letters*. – 2006. – V. 401. – P. 231-235.
142. De Sousa, D.P. Influence of the chirality of (R)- (-)- and (S)-(+)-carvone in the central nervous system: a comparative study. / F.F. de Farias Nobrega, R.N. de Almeida. // *Chirality*. – 2007a. – V. 19. – P. 264-268.
143. De Sousa, D.P. Evolution of the anticonvulsant activity of -terpineol. / L.Jr. Quantans, N. de Almedia. // *Pharmaceutical Biology*. – 2007b. – V. 45(1). – P. 69-70.
144. De Sousa, D.P. Evaluation of the anticonvulsant activity of terpinen-4-ol. / F.F.F. Nybregab, C.S.L. de Moraisb Liana, R.N. de Almeida. // *Z. Naturforsch.* – 2009. – V. 64. – P. 1-5.
145. De Sousa, D.P. Pharmacological activity of (R)-(+)-Pulegone, a chemical constituent of essential oils. / F.F.F. Nobrega, M.R.V. Lima, R.N. de Almeida. // *Z. Naturforsch.* – 2011. – V. 66. – P. 353- 359.

146. De Souza, R.M. Safinamide for the treatment of Parkinson's disease / R.M. de Souza, A. Schapira // Expert Opin. Pharmacother. – 2017. – V. 18(9). – P. 937–943.
147. Desroches, J. Endocannabinoids decrease neuropathic pain-related behavior in mice through the activation of one or both peripheral CB1 and CB2 receptors. / S. Charron, J.F. Bouchard, P. Beaulieu. // Neuropharmacology. – 2014. – V. 77. – P. 441–452.
148. Deutschländer, A.B. Treatment with istradefylline for postural abnormalities in Parkinson's disease / A.B. Deutschländer // Neurol. Neurochir. Pol. – 2019. – V. 53(4). – P. 239–241.
149. Devane, W.A. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat-brain. / F.A. Dysarz, M.R. Johnson, L.S. Melvin et al. // Molecular Pharmacology. – 1988. – V. 34. – P. 605–613.
150. Devane, W.A. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. // L. Hanus, A. Breuer, R.G. et al. // Science. – 1992. – V. 258. – P. 1946–1949.
151. Dezs, L. Monoamine oxidase B inhibitors in Parkinson's disease / L. Dezs, L. Vecsei // CNS Neurol. Disord. Drug Targets. – 2017. – V. 16(4). – P. 425–439.
152. Dey, A. Possible anti-Parkinson's Disease therapeutics from nature: a review. / J.N. De. // Stud. Nat. Prod. Chem - 2015. - V. 44. - P. 447–520.
153. Dickson, D.W. Neuropathology of Parkinson disease / D.W. Dickson // Parkinsonism Relat. Disord. – 2018. – V. 46. – Suppl. 1. – P. S30–S33.
154. Dietis, N. Opioid receptor subtypes: fact or artifact? / D.J. Rowbotham, D.G. Lambert // British Journal of Anaesthesia. – 2011. – V. 107. – P. 8–18.
155. Di Marzo, V. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. / A. Fontana, H. Cadas, S. Schinelli. // Nature. – 1994. – V. 372. – P. 686–691.

156. Dingemans, J. Issues important for rational COMT inhibition / J. Dingemans // *Neurology*. – 2000. – V. 55(11). – Suppl. 4. – P. S24–27.

157. Dinh, T.P. Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation. / D. Carpenter, F.M. Leslie, T.F. Freund et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 2002. – V. 99 – P. 10819–10824.

158. Dinh, T.P. RNA interference suggests a primary role for monoacylglycerol lipase in the degradation of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. / S. Kathuria, D. Piomelli. // *Molecular Pharmacology*. – 2004. – V. 66. – P. 1260–1264.

159. Di Stefano, G. Current and innovative pharmacological options to treat typical and atypical trigeminal neuralgia. / A. Truini, G. Cruccu. // *Drugs*. – 2018. – V. 78. – P. 1433-1442.

160. Dobetsberger, C. Action of essential oils on the central nervous system: an updated review. / G. Buchbauer. // *Flavour and Fragrance J.* – 2011. – V. 26. – P. 300-316.

161. Domon, Y. Binding characteristics and analgesic effects of mirogabalin, a novel ligand for the $\alpha 2\delta$ subunit of voltage-gated calcium channels. / N. Arakawa, T. Inoue, F. Matsuda et al. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2018. – V. 365. – P. 573-582.

162. Douaron, G. L. New 6-aminoquinoxaline derivatives with neuroprotective effect on dopaminergic neurons in cellular and animal Parkinson disease models. / L. Ferrie, J. E. Sepulveda-Diaz, M. Amar, et al. // *J. Med. Chem.* – 2016. – V. 59 (13). – P. 6169–6186.

163. Dovero, S. Unexpected toxicity of very low dose MPTP in mice: A clue to the etiology of Parkinson's disease? / C. Gross, E. Bezard. // *Synapse*. – 2016. – V. 70. – P. 49–51.

164. Duttaroy, A. Evaluation of muscarinic agonist-induced analgesia in muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. / J. Gomez, J.W. Gan, N.

Siddiqui, A.S. Basile, W.D. Harman. // Mol. Pharmacol. – 2002. – V. 62. – P. 1084-1093.

165. Eccles, R. Menthol and related cooling compounds. // J. Pharm. Pharmacol. – 1994. – V. 46. – P. 18-630.

166. Eddy, N.B., Synthetic analgesics: II. Dithienylbutylamine – and dithienylamine. / D. Leimbach. // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1953. – V. 107. – P.385-393.

167. Edmondson, E. Structural insights into the mechanism of amine oxidation by monoamine oxidases A and B. / C. Binda, A. Mattevi. // [Archives of Biochemistry and Biophysics](#) . – 2007. – V.15. – P. 269-276.

168. Effects of tocopherol and deprenyl on the progression of disability in early Parkinson's disease / Parkinson Study Group // N. Engl. J. Med. – 1993. – V. 328(3). – P. 176–183.

169. Eisenhofer, G. Catecholamine metabolism: A contemporary view with implications for physiology and medicine(Review) / G. Eisenhofer, I.J. Kopin, D.S. Goldstein // Pharmacol. Rev. – 2004. – V. 56(3). – P. 331–349.

170. Eliel, E.L. Stereochemistry of organic compounds. / S.H. Wilen, L.N. Mander. // New-York. – Wiley-Interscience. – 1994. – 1194p.

171. Ellis, J. M. Current approaches to the treatment of Parkinson's Disease. / M.J. Fell. // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 2017. – V. 27. – P. 4247–4255.

172. Elmer, L.W. Rasagiline adjunct therapy in patients with Parkinson's disease: post hoc analyses of the PRESTO and LARGO trials / L.W. Elmer // Parkinsonism Relat. Disord. – 2013. – V. 19(11). – P. 930–936.

173. Engel, W. In Vivo Studies on the Metabolism of the Monoterpenes S-(+)- and R-(-)-Carvone in Humans Using the Metabolism of Ingestion-Related Amounts (MICA). // Approach. J. Agric. Food Chem. – 2001. – V. 49 (8). – P. 4069-4075.

174. Esposito, E. Evidence of the involvement of dopamine in the analgesic effect of nefopam. / S. Romandini, E. Merlo-Pich, T. Mennini, R. Samanin. // *Europ. J. Pharm.* – 1986. – V. 128. – P. 157-164.
175. Esposito, E. New therapeutic strategy for Parkinson's and Alzheimer's disease. / S. Cuzzocrea. // *Curr. Med. Chem.* – 2010. – V.17 (25). – P. 2764-2774.
176. Fabbri, M. Substantia nigra neuro melanin as an imaging biomarker of disease progression in Parkinson's disease / M. Fabbri, S. Reimão, M. Carvalho // *J. Parkinsons Dis.* – 2017. – V. 7(3). – P. 491–501.
177. Factor, S. A long-term study of istradefylline in subjects with fluctuating Parkinson's disease /S. Factor, M.H. Mark, R. Watts et al. // *Parkinsonism Relat. Disord.* – 2010. – V. 16(6). – P. 423–426.
178. Fahn, S. Description of Parkinson's disease as a clinical syndrome. // *Annals of the New York Academy of Sciences.* – 2003. – V. 991. – P. 1-14
179. Fahn, S. The medical treatment of Parkinson disease from James Parkinson to George Cotzias / S. Fahn // *Mov. Disord.* – 2015. – V.30(1). – P. 4–18.
180. Farrant, M. Variations on an inhibitory theme: phasic and tonic activation of GABAA receptors. / Z. Nusser. // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2005. – V. 6. – P. 215-229.
181. Farre, A.J. Maximum tolerated temperature in the rat tail: a broadly sensitive test of analgesic activity. / M. Colombo, B. Gutierrez. // *Exp. Clin. Pharmacol.* – 1989. – V. 11 (5). – P. 303-307.
182. Farrimond, J.A. Cannabis sativa and the endogenous cannabinoid system: therapeutic potential for appetite regulation. / M.S. Mercier, B.J. Whalley, C.M. Williams. // *Phytother. Res.* – 2011. – V. 25. – P. 170-188.
183. Felipe, C.F.B. Comparative study of alpha- and beta-pinene effect on PTZ-induced convulsions in mice. / A.M.S. Albuquerque, J.L.X. Pontes, J.I.V. Melo et al. // *Fund. Clin. Pharm.* - 2019. - V. 33. - P. 181-190.

184. Feng, Y. Current Research on Opioid Receptor Function. / X. He, Y. Yang, D. Chao, et al. // *Current Drug Targets*. – 2012. – V. 13. – P. 230-246.

185. Fernandez, H.H. Istradefylline as monotherapy for Parkinson disease: results of the 6002-US-051 trial / H.H. Fernandez, D.R. Greeley, R.M. Zweig et al. // *Parkinsonism Relat.Disord*. – 2010. – V. 16(1). – P. 16–20.

186. Fernandez-Sanchez, L. Safranal, a saffron constituent, attenuates retinal degeneration in P23H Rats. / P. Lax, G. Esquivia, J. Martin-Nieto, et al. // *PLoS One*. – 2012. – V. 7 (8). – P. 1-11.

^{187.} Ferré, S. Adenosine-dopamine receptor-receptor interactions as an integrative mechanism in the basal ganglia / B.B. Fredholm, M. Morelli et al. // *Trends Neurosci*. – 1997. – V. 20(10). – P. 482–487.

^{188.} Filho, A.W.Quercetin—further investigation of its antinociceptive properties and mechanism of action. / V.C. Filho, L. Olinger. // *Arch. Pharmacol. Res*. – 2008. – V. 31. – P. 713–721.

189. Forster, H.B. Antispasmodic effects of some medicinal plants. / H. Niklas, S. Lutz. // *Planta Med*. – 1980. – V. 40. – P. 309-319.

190. Fricke-Galindo, I. Carbamazepine adverse drug reactions. / A.L. Lerena, H. Jung-Cook, M. López-López. // *Expert Rev. Clin. Pharmacol*. – 2018. – V. 11. – P. 705-718.

191. Friedman, A. Opioids. Pharmacology, physiology and clinical implications in pain medicine. / L. Nabong. // *Phys. Med. Rehabil. Clin*. - 2020. - V. 31. - P. 289-303.

192. Fullard M.E. Olfactory Dysfunction as an early biomarker in Parkinson's disease. / J.F. Morley, J.E. Duda. // *Neurosci. Bull*. - 2017. - V. 33(5). - P. 515-525.

193. Gage, G. J. Whole animal perfusion fixation for rodents. / D. R. Kipke, W. Shain. // *J. Visualized Exp*. – 2012. – V. 65 (e3564). – P. 1-9.

194. Gajcy, K. A role of GABA analogues in the treatment of neurological diseases. / S. Lochynski, T. Librowski. // *Current Medicinal Chemistry*. – 2010. – V. 17. – P. 2338-2347.
195. Galeotti, N. Local anaesthetic activity of (+) and (–)-menthol. / C. Ghelardini, L.D.C. Manelli, G. Mazzanti, et al. // *Planta. Med.* – 2000. – V. 66. P. 1-2.
196. Galeotti, N. Menthol: a natural analgesic compound. / L. Mannelli, G. Mazzanti. // *Neuroscience Letters*. – 2002. – V. 322. – P. 145-148.
197. Garcia, D.A. Allosteric positive interaction of thymol with the GABAA receptor in primary cultures of mouse cortical neurons. / J. Bujons, C. Vale, C. Sunol. // *Neuropharmacology*. – 2006. – V. 50. – P. 25-35.
198. Garcia, D.A. GABA released from cultured cortical neurons influences the modulation of t-[35S]butylbicyclophosphorothionate binding at the GABAA receptor. Effects of thymol. / I. Vendrel, M. Galofre, C. Sunol. // *European Journal of Pharmacology*. – 2008. – V. 600. – P. 26-31.
199. Gaven, F. Primary culture of mouse dopaminergic neurons. / P. Marin, S. Claeysen. // *J. Visualized Exp.* – 2014. – V. 91. – P. e51751.
200. Gey, K.F. Distribution and metabolism of DL-3,4-dihydroxy[2-14C]-phenylalanine in rat tissues / K.F. Gey, A. Pletscher // *Biochem. J.* – 1964. – V. 92(2). – P. 300–308.
201. Ghosh, S. The monoacylglycerol lipase inhibitor JZL184 suppresses inflammatory pain in the mouse carrageenan model. / L.E. Wise, Y. Chen, R. Gujjaret al. // *Life Sciences*. – 2013. – V. 92. – P. 498–505.
202. Ghosh, S. Full FAAH inhibition combined with partial monoacylglycerol lipase inhibition: Augmented and sustained antinociceptive effects with negligible cannabimimetic side effects in mice. / S.G. Kinsey, Q-s. Liu, L. Hrubá et al. // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2015. – V. 354(2). – P. 111-120.

203. Ghys, L. Effect of rotigotine on sleep and quality of life in Parkinson's disease patients: post hoc analysis of RECOVER patients who were symptomatic at baseline. / L. Ghys, E. Surmann, J. Whitesides et al. // *Expert Opin. Pharmacother.* – 2011. – V. 12(13). – P. 1985–1998. Gibb, W.R. Neuronal inclusions of Parkinson's disease /W.R. Gibb, T. Scott, A.J. Lees // *Mov. Disord.* – 1991. – V. 6. – P. 2–11.

204. Gibb, W.R. Anatomy, pigmentation, ventral and dorsal subpopulations of the substantia nigra, and differential cell death in Parkinson's disease. / A.J. Lees. // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* - 1991. - V. 54(5). - P. 388-396.

205. Giladi, N. Effects of long-term treatment with rotigotine transdermal system on dyskinesia in patients with early-stage Parkinson's disease / N. Giladi, L. Ghys, E. Surmann et al. // *Parkinsonism Relat. Disord.* – 2014. – V. 20(12). – P. 1345–1351.

206. Golbe, L.I. The genetics of Parkinson's disease: a reconsideration / L.I. Golbe // *Neurology.* – V. 40. – P. 7–14.

207. Golshani, S. Antinociceptive effects of the essential oil of *Dracocephalum kotschy* in the mouse writhing test. / F. Karamkhani, H.R. Monsef-Esfehani, M. Abdollahi. // *J. Pharm. Pharm. Sci.* – 2004. – V. 7 (1). – P. 76-79.

208. Goncalves, J.C. Distinct effects of carvone analogues on the isolated nerve of rats. / M. Alves Ade, A.E. de Araujo, J.S. Cruz. // *European Journal of Pharmacology.* – 2010. – V. 645. – P. 108-112.

209. Gonsiorek, W. Endocannabinoid 2-arachidonyl glycerol is a full agonist through human type 2 cannabinoid receptor: antagonism by anandamide. / C. Lunn, X. Fan, S. Narula et al. // *Molecular Pharmacology.* – 2000. – V. 57. – P. 1045–1050.

210. Goole, J. Levodopa delivery system for treatment of Parkinson's disease: an overview / J. Goole, K. Amighi // *Intern. J. Pharmac.* – 2009. – V. 380. – P. 1–15.

211. Granger, R.E. (+)- And (-)-borneol: efficacious positive modulators of GABA action at human recombinant $\alpha 1\beta 2\gamma 2L$ GABAA receptors. / E.L. Campbell, G.A.R. Johnson. // *Biochemical Pharmacology*. – 2005. – V. 69. – P. 1101-1111.
212. Green, B.G. Interactions between chemical and thermal cutaneous stimuli: inhibition (counterirritation) and integration. // *Somatosens. Mot. Res.* – 1991. – V. 8 (4). – P. 301-312.
213. Green, B.G. Menthol desensitization of capsaicin irritation. Evidence of a short-term anti-nociceptive effect. / B.L. McAuliffe. // *Physiol. Behav.* – 2000. – V. 68 (5). – P. 631-639.
214. Gregg, L.C. Activation of type 5 metabotropic glutamate receptors and diacylglycerol lipase- α initiates 2-arachidonoylglycerol formation and endocannabinoid mediated analgesia. / K.M. Jung, J.M. Spradley, R. Nyilas et al. // *The Journal of Neuroscience*. – 2012. – V. 32. – P. 9457–9468.
215. Grégoire, L. Safinamide reduces dyskinesias and prolongs L-DOPA antiparkinsonian effect in parkinsonian monkeys / L. Grégoire, V.A. Jourdain, M. Townsend et al. // *Parkinsonism Relat. Disord.* – 2013. – V. 19(5). – P. 508–514.
216. Guindon, J. Cannabinoid CB2 receptors: a therapeutic target for the treatment of inflammatory and neuropathic pain. / A.G. Hohmann. // *Br. J. Pharmacol.* - 2008. - V. 153(2). - P. 319-334.
217. Guindon, J. The role of the endogenous cannabinoid system in peripheral analgesia. // P. Beaulier. // *Curr. Mol. Pharmacol.* - 2009. - V. 2(1). - P. 134-139.
218. Guindon, G. The Endocannabinoid System and Pain. / A. Hohmann. // *CNS Neurological Disorders Drug Targets*. – 2009. – V. 8 (6) – P. 403-421.
219. Guindon, J. Peripheral antinociceptive effects of inhibitors of monoacylglycerol lipase in a rat model of inflammatory pain. / A Guijarro, D. Piomelli, A.G. Hohmann. // *Br. J. Pharmacol.* – 2011. – V. 163. – P. 1464– 1478.

220. Guindon, J. Alterations in endocannabinoid tone following chemotherapy-induced peripheral neuropathy: Effects of endocannabinoid deactivation inhibitors targeting fatty-acid amide hydrolase and monoacylglycerol lipase in comparison to reference analgesics following cisplatin treatment. / Y. Lai, S.M. Takacs, H.B. Bradshaw et al. // *Pharmacological Research*. – 2013. – V. 67. – P. 94–109.

221. Haag, J.D. Limonene-induced regression of mammary carcinomas. / M.J. Lindstrom, M.N. Gould. // *Cancer Res.* - 1992. - V. 52(14). - P. 4021-4026.

222. Hall, A.C. Modulation of human GABAA and glycine receptor currents by menthol and related monoterpenoids. / C.M. Turcotte, B.A. Betts, W.-Y. Yeung, et al. // *European Journal of Pharmacology*. – 2004. – V. 506. – P. 9-16.

223. Hall, W. Adverse effects of cannabis. / N. Solowij. // *Lancet*. – 1998. – V. 352. – P. 1611–1616.

224. Han, Y. Antimicrobial Susceptibility and Antibacterial Mechanism of Limonene against *Listeria monocytogenes*. / Z. Sun, W. Chen. // *Molecules*. - 2019. - V. 25(1). - P. 33.

225. Handin, R.I. The history of antithrombotic therapy: the discovery of heparin, the vitamin K antagonists, and the utility of aspirin. // *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.* – 2016. – V. 30. –P. 987-993.

226. Hauser, R.A. Randomized trial of the adenosine A(2A) receptor antagonist istradefylline in advanced PD / R.A. Hauser, J.P. Hubble, D.D. Truong et al. // *Neurology*. – 2003. – V. 61(3). – P. 297–303.

227. Hagelberg, N. Altered dopamine D2 receptor binding in atypical facial pain. / H Forsell, S. Aalto, J.O. Rinne, H. Scheinin, T. Taiminen.// *Pain*.- 2003. – V. 106. – P. 43-48.

228. Hanus, L. 2-arachidonyl glyceryl ether, an endogenous agonist of the cannabinoid CB1 receptor. / S. Abu-Lafi, E. Fride, A. Breuer, et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. – 2001. – V. 27. – P. 3662-3365.

229. Hassenbusch, S.J. Intrathecal clonidine in the treatment of intractable pain: a phase I/II study. / S. Gunes, S. Wachsman, K.D. Willis. // *Pain Med.* – 2002. – V. 3. – P. 85–91.

230. Hauser, D.N. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Parkinson's disease and monogenic parkinsonism / D.N. Hauser, T.G. Hastings // *Neurobiol. Dis.* – 2013. – V. 51. – P. 35–42.

231. Hauser, R.A. Randomized trial of the adenosine A(2A) receptor antagonist istradefylline in advanced PD. / J.B. Hubble, D.D. Truong. // *Neurology.* – 2003. – V. 61(3). – P. 297–303.

232. Hauser, R.A. Factors associated with development of motor fluctuation and dyskinesia in Parkinson's disease / R.A. Hauser, M.P. McDermott, S. Messing // *Arch. Neurol.* – 2006. – V. 63(12). – P. 1756–1760.

233. Hauser, R.A. Levodopa: past, present, and future / R.A. Hauser // *Eur. Neurol.* – 2009. – V. 62(1). – P. 1–8.

234. Hayes, M.W. Updates and advances in the treatment of Parkinson disease / M.W. Hayes, V.S.C. Fung, T.E. Kimber et al. // *Med. J. Aust.* – 2019. – DOI: 10.5694/mja2.50224.

235. Heimans, R.L. Effects of amantadine on uptake and release of dopamine by a particulate fraction of rat basal ganglia / R.L. Heimans, M.J. Rand, M.R. Fennessy // *J. Pharm. Pharmacol.* – 1972. – V. 24(11). – P. 875–879.

236. Hernandez-Baltazar, D. The 6-hydroxydopamine model and parkinsonian pathophysiology: novel findings in an older model / D. Hernandez-Baltazar, L.M. Zavala-Flores, A. Villanueva-Olivo // *Neurologia.* – 2017. – V. 32(8). – P. 533–539.

237. Henriksen, G. Imaging of opioid receptors in the central nervous system. / F. Willoch. // *Brain.* – 2008. – V. 131. – P. 1171–1196.

238. Herkenham, M. Cannabinoid receptor localization in brain. / A.B. Lynn, M.D. Little, M.R. Johnson et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA.* – 1990. – V. 87. – P. 1932–1936.

239. Herrera-Arozamena, C. Recent Advances in neurogenic small molecules as innovative treatments for neurodegenerative diseases. / O. Martí-Mari, M. Estrada, M. F. Revenga, et al. // *Molecules*. – 2016. – V. 21 (9). – P. 1165–1186.
240. Heumann, R. Dyskinesia in Parkinson's disease: mechanisms and current non-pharmacological interventions / R. Heumann, R. Moratalla, M.T. Herrero et al. // *J. Neurochem*. – 2014. – V. 130(4). – P. 472–489.
241. Him, A. Antinociceptive activity of alpha-pinene and fenchone. / H. Ozbek, I. Turel, A.C. Oner. // *Pharmacologyonline*. – 2008. – V. 3. – P. 363-369.
242. Hickey, P. Available and emerging treatments for Parkinson's disease: a review. / M. Stacy. // *Drug. Des. Devel. Ther.* – 2011. – V. 5. – P. 241-54.
243. Hisahara, S. Dopamine receptors and Parkinson's disease / S. Hisahara, S. Shimohama // *Int. J. Med. Chem.* – 2011. – V. 2011. – P. 403039.
244. Hohmann, A.G. Spinal and peripheral mechanisms of cannabinoid antinociception: behavioral, neurophysiological and neuroanatomical perspectives. // *Chemistry and Physics of Lipids*. – 2002. – V. 121. – P. 173–190.
245. Hohmann, A.G. An endocannabinoid mechanism for stress-induced analgesia. / R.L. Suplita, N.M. Bolton, M.H. Neely et al. // *Nature*. – 2005. – V. 435. – P. 1108–1112.
246. Holt, S. Inhibitors of fatty acid amide hydrolase reduce carrageenan-induced hind paw inflammation in pentobarbital-treated mice: comparison with indomethacin and possible involvement of cannabinoid receptors. / F. Comelli, B. Costa, C.J. Fowler. // *Br. J. Pharmacol.* – 2005. – V. 146. – P. 467–476.
247. Hord, A.H. $\alpha 1$ - and $\alpha 2$ -adrenergic antagonist relieve thermal hyperalgesia in experimental mononeuropathy from chronic constriction injury. / D.D. Denson, B. Stowe, R.M. Haygood. // *Anesthesia. Analgesia*. – 2001. – V. 92. – P. 1558-1562.

248. Hosseinzadeh, H. Protective effect of safranal on pentylenetetrazolinduced seizures in the rat: Involvement of GABAergic and opioid systems. / H.R. Sadeghnia. // *Phytomedicine*. – 2007. – V. 14. – P. 256-262.

249. Howard K. Mapping quantitative trait loci for open-field behavior in mice. / D. Geshehfeld, E. Paul et al. // *Behavior Genetics*. – 1997. – V. 27 (3). – P. 201-210.

250. Hubsher, G. Amantadine: the journey from fighting flu to treating Parkinson disease / G. Hubsher, M. Haider, M.S. Okun// *Neurology*. – 2012. – V. 78(14). – P. 1096–1099.

251. Huggins, J.P. An efficient randomised, placebo-controlled clinical trial with the irreversible fatty acid amide hydrolase-1 inhibitor PF-04457845, which modulates endocannabinoids but fails to induce effective analgesia in patients with pain due to osteoarthritis of the knee. / T.S. Smart, S. Langman, L. Taylor et al. // *Pain*. – 2012. – V. 153. – P. 1837–1846.

252. Iijima, M. Efficacy of istradefylline for gait disorders with freezing of gait in Parkinson's disease: a single-arm, open-label, prospective, multicenter study / M. Iijima, S. Orimo, H. Terashi et al. // *Expert Opin. Pharmacother.* – 2019. – V. 20(11). – P. 1405–1411.

253. Ignatowska-Jankowska, B.M. In vivo characterization of the highly selective monoacylglycerol lipase inhibitor KML29: Antinociceptive activity without cannabimimetic side effects. / S. Ghosh, M.S. Crowe, S.G. Kinsey et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 2014. – V. 171(6). – P. 1392–1407.

254. Ignatowska-Jankowska, B.M. Selective monoacylglycerol lipase inhibitors: Antinociceptive vs. cannabimimetic effects in mice. / J.L. Wilkerson, M. Mustafa, R. Abdullah et al. // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2015. – V 353(2). – P. 424-432.

255. Imperatore, R. Genetic deletion of monoacylglycerol lipase leads to impaired cannabinoid receptor CB1R signaling and anxiety-like behavior. / G.

Morello, L. Luongo, U. Taschler et al. // *Journal of Neurochemistry*. – 2015. – V. 135. – P. 799– 813.

256. Ishida, T. Terpenoid biotransformation in mammals. V. Metabolism of (+)-citronellal, (+-)-7-hydroxycitronellal, citral, (-)-perillaldehyde, (-)-myrtenal, cuminaldehyde, thujone, and (+-)-carvone in rabbits. / M. Toyota, Y. Asakawa. // *Xenobiotica*. – 1989. – V. 19 (8). – P. 843-855.

257. Issa, M.Y. Neuroprotective effects of *Pulicaria undulata* essential oil in rotenone model of parkinson's disease in rats: Insights into its anti-inflammatory and anti-oxidant effects. / M.I. Ezzat, R.H. Sayed, E.M. Elbaz. // *South African J. Bot.* - 2020. - V. 132. - P. 289-298.

258. Iwamoto, E.T. Pharmacological evidence that nitric oxide mediates the antinociception produced by muscarinic agonists in the rostral ventral medulla of rats. / L.Marion. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1994. V. 269. – P. 699-708.

259. Jackisch, R. Studies on the mechanism of action of the antiparkinsonian drugs memantine and amantadine: no evidence for direct dopaminomimetic or antimuscarinic properties / R. Jackisch, T. Link, B. Neufang et al. // *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* – 1992. – V. 320. – P. 21–42.

260. Jackson-Lewis, V. Protocol for the MPTP model of Parkinson's disease. / S. Przedborski. // *Nat. Protoc.* – 2007. – V. 2. – P. 141-151.

261. Jacobsen, R. Physician-related barriers to cancer pain management with opioid analgesics: a systematic review. / P. Sjøgren, C. Moldrup, L. Christrup // *J. Opioid. Manag.* – 2007. – V. 3. – P. 207-214.

262. Jameson, G.N. Kinetic evidence that cysteine reacts with dopaminoquinone via reversible adduct formation to yield 5-cysteinyldopamine: an important precursor of neuromelanin / G.N. Jameson, J. Zhang, R.F. Jameson et al. // *Org. Biomol. Chem.* – 2004. – V. 2(5). – P. 777–782.

263. Jang, H. Viral parkinsonism / H. Jang, D.A. Boltz, R.G. Webster et al. // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2009. – V. 1792(7). – P. 714–721.

264. Jansen, C. Myrcene and terpene regulation of TRPV1. / L.M.N. Shimoda, J.K. Rfwakami, L. Ang et al. // *Channels*. - 2019. - V. 13(1). - P. 344-366.
265. Javed, S. Mirogabalin and emerging therapies for diabetic neuropathy. / U. Alam, R.A. Malik. // *J. Pain Res.* – 2018. –V. 11. – P. 1559-1566.
266. Jayamanne, A. Actions of the FAAH inhibitor URB597 in neuropathic and inflammatory chronic pain models. / R. Greenwood, V.A. Mitchell, S. Aslan et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 2006. – V. 147. – P. 281–288.
267. Jensen, T.S. Translation of symptoms and signs into mechanisms in neuropathic pain. / R. Baron. // *Pain*. – 2003. – V. 102. – P. 1-8.
268. Jhaveri, M.D. Analgesic effects of fatty acid amide hydrolase inhibition in a rat model of neuropathic pain. / D. Richardson, D.A. Kendall, D.A. Barrett et al. // *The Journal of Neuroscience*. – 2006. – V. 26. – P. 13318–13327.
269. Jia S.S. Induction of apoptosis by D-limonene is mediated by inactivation of Akt in LS174T human colon cancer cells. / G.P. Xi, M. Zhang, Y.B. Chen et al. // *Oncology Reports*. - 2012. - V. 29(1). - P. 349-354.
270. Jimenez-Cruz, F. Molecular structure of 1-azaadamantanes and 1,3-diazaadamantanes. / H. Rios-Olivares, J. L. G. Gutierrez. // *Structural analysis of cyclic systems*. – 2005. – P. 101-125.
271. Jin X.H. cDNA cloning and characterization of human and mouse Ca(2+)-independent phosphatidylethanolamine N-acyltransferases. / T. Uyama, J. Wang, Y. Okamoto, et al. // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2009. – V. 1791. – P. 32–38.
272. Joranson, D.E. Trends in medical use and abuse of opioid analgesics. / K.M. Ryan, A.M. Gilson, J.L. Dahl. // *JAMA*. – 2000 – V. 283(13). – P. 1710-1714.
273. Josée, G. The Endocannabinoid System and Pain. / G.H. Andrea. // *CNS Neurol. Disord. Drug. Targets*. – 2009. – V. 8. – P. 403–421.

274. Joyce, J.N. Loss of response to levodopa in Parkinson's disease and co-occurrence with dementia: role of D3 and not D2 receptors / J.N. Joyce, H.L. Ryoo, T.B. Beach et al. // *Brain Res.* – 2002. – V. 955(1-2). – P. 138–152.
275. Juncos, J.L. Levodopa: pharmacology, pharmacokinetics and pharmacodynamics / J.L. Juncos // *Neurol. Can.* – 1992. – V. 110(2). – P. 487–509.
276. Jutkiewicz, E.M. The antidepressant-like effects of delta-opioid receptor agonists. // *Mol. Interv.* – 2006. – V. 6. – P. 162-169.
277. Kalia, L.V. Parkinson's disease / L.V. Kalia, A.E. Lang // *Lancet.* – 2015. – V. 386. – P. 896–912.
278. Kanda, T. Adenosine A2A antagonist: a novel antiparkinsonian agent that does not provoke dyskinesia in parkinsonian monkeys /T. Kanda, M.J. Jackson, L.A. Smith et al.// *Ann. Neurol.* – 1998. – V. 43(4). – P. 507–513.
279. Karbarz, M.J. Biochemical and biological properties of 4-(3-phenyl-[1,2,4]thiadiazol-5-yl)-piperazine-1-carboxylic acid phenylamide, a mechanism-based inhibitor of fatty acid amide hydrolase. // L .Luo, L. Chang, C.S. Tham et al. // *Anesthesia and Analgesia.* – 2009. – V. 108. – P. 316–329.
280. Kapitsa, I.G. Synthesis and anxiolytic activity of 2-aminoadamantane derivatives containing monoterpene fragments. / E.V. Suslov, G.V. Teplov, D.V. Korchagina, N.I. Komarova, K.P. Volcho, T.A. Voronina, A.I. Shevela, N.F. Salakhutdinov // *Pharm. Chem. J.* – 2012. – V. 46 (5). – P. 263-265.
281. Katona, I. Multiple functions of endocannabinoid signaling in the brain. / T. Freund. // *Annual Review of Neuroscience.* – 2012. – V. 35 – P. 529–558.
282. Katsukawa, M. Citral, a component of lemongrass oil, activates PPAR α and γ and suppresses COX-2 expression. / R. Nakata, Y. Takizawa, K. Hori et al. // *BBA - Molecular and Cell Biology of Lipids.* - 210. - V. 1801(11). - P. 1214-1220.

283. Kaur, R. Participation of α_2 -receptor in the antinociceptive activity of quercetin. / D. Singh, K. Chopra. // *J. Med. Food.* – 2005. – V. 8. – P. 529–532.

284. Kaur, R. What failed BIA 10–2474 Phase I clinical trial? Global speculations and recommendations for future Phase I trials. / P. Sidhu, S. Singh. // *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics.* – 2016. – V. 7 – P. 120–126.

285. Kelly, S. Selective cannabinoid CB1 receptor activation inhibits spinal nociceptive transmission in vivo. / V. Chapman. // *J. Neurophysiol.* – 2001. – V. 86. – P. 3061–3064.

286. Khor, S.P. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of levodopa in the treatment of Parkinson's disease / S.P. Khor, A. Hsu // *Curr. Clin. Pharmacol.* – 2007. – V. 2(3) – P. 234–243.

287. Khoshnazar, M. Alpha-pinene exerts neuroprotective effects via anti-inflammatory and anti-apoptotic mechanisms in a rat model of focal cerebral ischemia-reperfusion. / S. Parvardeh, M.R. Bigdeli. // *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* – 2020. – V. 29(8). – P. 1–10.

288. Kiamoto, T. Involvement of transient receptor potential A1 channel in algescic and analgesic actions of the organic compound limonene. / Y. Hatakeyama, K. Takahashi, T. Imagawa et al. // *Europ. J. Pain.* – 2016. – V. 20. – P. 1155–1165.

289. Kim, D.S. Alpha-pinene exhibits anti-inflammatory activity through the suppression of MAPKs and the NF- κ B pathway in mouse peritoneal macrophages. / H.J. Lee, Y.D. Jeon, Y.H. Han et al. // *The American J. of Chinese Medicine.* – 2015. – V. 43(4). – P. 731–742.

290. Kim, E.S. Gabapentin enacarbil: a review in restless legs syndrome. / E.D. Deeks. // *Drugs.* – 2016. – V. 76. – P. 879–887.

291. Kim, K.H. Rediscovery of nefopam for the treatment of neuropathic pain. / S. Abdi. // *Korean J. Pain.* – 2014 – V. 27. – P. 103–111.

292. King, A.R. URB602 inhibits monoacylglycerol lipase and electively blocks 2-arachidonoylglycerol degradation in intact brain slices. // A. Duranti, A. Tontini, S. Rivara et al. // *Chemistry & Biology*. – 2007. – V. 14. – P. 1357–1365.

293. Kinsey, S.G. Blockade of endocannabinoid-degrading enzymes attenuates neuropathic pain. / J.Z. Long, S.T. O’Neal, R.A. Abdullah et al. // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2009. – V. 330. – P. 902–910.

294. Kinsey, S.G. Fatty acid amide hydrolase and monoacylglycerol lipase inhibitors produce anti-allodynic effects in mice through distinct cannabinoid receptor mechanisms. // J.Z. Long, B.F. Cravatt, A.H. Lichtman. // *The Journal of Pain*. – 2010. – V. 11. – P.1420–1428.

295. Kinsey, S.G. Inhibition of monoacylglycerol lipase attenuates nonsteroidal anti-inflammatory drug induced gastric hemorrhages in mice. / D.K. Nomura, S.T. O’Neal, J.Z. Long et al. // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2011. – V. 338. – P. 795–802.

296. Kis, B. Acetaminophen and the cyclooxygenase-3 puzzle: sorting out facts, fictions, and uncertainties. / J.A. Snipes, D.W. Busija. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2005. – V. 315. – P. 1-7.

297. Knych, H.K. Disposition, behavioural and physiological effects of escalating doses of intravenously administered fentanyl to young foals. / H.K. Knych, E.P. Steffey, H.C. Casbeer et al. //, *Equine Vet. J.* - 2015. - V. 47. - P. 592-598.

298. Kocovsky, P. Synthesis of natural products: Problems of stereoselectivity. / F. Turecek, J. Hajicek. // *CRC Press: Boca Raton*. – 1986. – P. 186.

299. Kong Y, Paeoniflorin exerts neuroprotective effects in a transgenic mouse model of Alzheimer’s disease via activation of adenosine A1 receptor. / Q. Peng, N. Lv, J.Yuan et al. // *Neurosci. Lett.* - 2020. - V. 730. - P. 135016.

300. Koster, R. Acetic acid for analgesic screening. / M. Anderson, E.I. Deber. // Fed. Proc. – 1959. – V. 18. – P. 412.

301. Kubacka, M. Anticonvulsant and antidepressant activity of the selected terpene GABA derivatives in experimental tests in mice. / T. Librowski, R. Czarnecki, B. Frackowiak, et al. // Pharm. Reports. – 2006. – V. 58. – P. 936-943.

302. Kuznetsov, A.I. Azaadamantanes with nitrogen atoms in the bridgehead positions. / N.S. Zefirov. // Russian Chemical Reviews. – V. 58(11):1033. – P. 194-212

303. Kvernmo, T. A review of the receptor-binding and pharmacokinetic properties of dopamine agonists. / T. Kvernmo, S. Härtter, E. Burger // Clin. Ther. – 2006. – V. 28(8). – P. 1065–1078.

304. Langston, J.W. Evidence of active nerve cell degeneration in the substantia nigra of humans years after 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine exposure / J.W. Langston, L.S. Forno, J. Tetud et al. // Ann. Neurol. – 1999. – V. 46. – P. 598–605.

305. Langston, J.W. The MPTP story / J.W. Langston // J. Parkinsons Dis. – 2017. – V. 7. – Suppl. 1. – P. 11–19.

306. Lapin, I. P. Adrenergic nonspecific potentiation of yohimbine toxicity in mice by antidepressants and related drugs and antiyohimbine action of antiadrenergic and serotonergic drugs // Psychopharmacology. – 1980. – V. 70 (2). – P. 179-185.

307. Larson, A.M. Acetaminophen hepatotoxicity. // Clin. Liver. Dis. – 2007. – V. 11. – P. 525-548.

308. Laycock, H. Opioid mechanisms and opioid drugs. / C. Bantel. // Anaesth. Intens. Care Med. - 2019. - 20(8). - P. 450-455.

309. Layne, K. Opioid poisoning. / D.M. Wood. // Medicine. - 2019. - V. 48(3). - P. 211-213.

310. Le Bars, D. Animal Models of Nociception. / G. Manuela, W.C. Samuel. // Pharmacological Reviews. – 2001. – V. 53. – P. 597-652.
311. Lee, R.E. Combinatorial lead optimization of [1,2]-diamines based on ethambutol as potential antituberculosis preclinical candidates. / M. Protopopova, E. Crooks, R. A. Slayden, M. Terrot. // J. Comb. Chem. – 2003. – V. 5(2). – P. 172-187.
312. Lee S.C. Anti-inflammatory effect of cinnamaldehyde and linalool from the leaf essential oil of *Cinnamomum mosmophloeum* Kanehira in endotoxin-induced mice. / S.Y. Wang, C.C. Li, C.T. Liu. // J. Food Drug Analysis. - 2018. - V. 26. - P. 211-220.
313. Leiphart, J.W. Alpha2-adrenergic receptor subtype specificity of intrathecally administered tizanidine used for analgesia for neuropathic pain. / C.V. Dills, R.M. J. Levy. / Neurosurg. – 2004. – V. 101. – P. 641-647.
314. Leppert, W. Pain Management in Patients with Cancer: Focus on Opioid Analgesics. // Curr. Pain Headache Rep. – 2011. – V. 15. – P. 271–279.
315. Letizia, C.S. Fragrance material review on linalool. / J. Cocchiara, J. Lalko, A.M. Api. // Food Chem. Toxicol. – 2003.- V. 41 (7). – P. 943-964.
316. Leung, L. Cannabis and Its Derivatives: Review of Medical Use // JABFM. – 2011. – V. 24. – N 4. – P. 452-462.
317. Lewanowitsch, T. Reversal of morphine, methadone and heroin induced effect in mice by naloxonemethiodide. / T. Lewanowitsch, J.H. Miller, J.I. Rodney. // Live Sci. - 2006. - V. 78.- P. 682-688.
318. LeWitt, P.A. Adenosine A2A receptor antagonist istradefylline (KW-6002) reduces "off" time in Parkinson's disease: a double-blind, randomized, multicenter clinical trial (6002-US-005) / P.A. LeWitt, M. Guttman, J.W. Tetrudet al. // Ann. Neurol. – 2008. – V. 63(3). – P. 295–302.
319. Li, G.L. Assessment of the pharmacology and tolerability of PF-04457845, an irreversible inhibitor of fatty acid amide hydrolase-1, in healthy

subjects. / H. Winter, R. Arends, G.W. Jay et al. // *British Journal of Clinical Pharmacology*. – 2012. – V. 73. – P. 706–716.

320. Li X.J. α -Pinene, linalool, and 1-octanol contribute to the topical anti-inflammatory and analgesic activities of frankincense by inhibiting COX-2. / Y.J. Yang, Y.S. Li, W.K. Zhang et al. // *J. Ethnopharm.* - 2016. - V. 179. - P. 22-26.

321. Lichtman, A.H. Cannabinoid tolerance and dependence. / B.R. Martin. // *Handb. Exp. Pharmacol.* – 2005. – V. 168. – P. 691–717.

322. Lichtman, A.H. A FAAH-fetched approach to treat osteoarthritis pain. / V. Chapman. // *Pain*. – 2011. – V. 152. – P. 959–960.

323. Liapi, C. Antinociceptive properties of 1,8-cineole and α -pinene from the essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* leaves, in rodent. / G. Anifantis, I. Chinou, A.P. Kourounakis, et al. // *P. Planta. Med.* – 2007. – V. 73. – P. 1247–1254.

324. Librowski, T. Influence of new monoterpene homologues of GABA on the central nervous system activity in mice. / R. Czarnecki, A. Mendyk, M. Jastrzebska. // *Pol. J. Pharmacol.* – 2000. – V. 52. – P. 317–321.

325. Lima, D.F. Antinociceptive activity of the monoterpene - phellandrene in rodents: possible mechanisms of action. / M.S. Brandao, J.B. Moura, J.M. Leitao, ET AL. // *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. – 2012. – V. 64. – P. 283–292.

326. Lin, Z.Z. Effects of borneol on distribution of sodium ferulate in plasma and in brain regions of mice. / M.C. Yao, M.X. Lan, P.Q. Liu, et al. // *Zhong Cao Yao*. – 2008. – V. 39. – P. 51–56.

327. Lincka, V.M. Effects of inhaled Linalool in anxiety, social interaction and aggressive behavior in mice. / A.L. da Silva, M.E. Figueiro, B. et al. // *Phytomedicine*. – 2010. – V. 17. – P. 679–683.

328. Liu, D.Z. Neuroprotective effect of paeoniflorin on cerebral ischemic rat by activating adenosine A1 receptor in a different manner from its classical

agonists. / K.Q. Xie, X.Q. Ji, Y. Ye. // Br. J. Pharmacol. – 2005. – V. 146. P. 604-611.

329. Liu, H.Q. Paeoniflorin attenuates neuroinflammation and dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson's disease by activation of adenosine A1 receptor. / W.Y. Zhang, X.T. Luo, Y. Ye, et al. // Br. J. Pharmacol. – 2006. – V. 148 (3). P. 314-325.

330. Liu, R. Protection by borneol on cortical neurons against oxygen-glucose deprivation/reperfusion: involvement of anti-oxidation and anti-inflammation through nuclear transcription factor κ B signaling pathway. / L. Zhang, X. Lan, L. Li, et al. // Neuroscience/ - 2011. – V. 176. – P. 408-419.

331. Liu, Y.J. Research progress on adenosine in central nervous system diseases / Y. J. Liu, J. Chen, X. Li et al. // CNS Neurosci.Ther. – 2019. – V. 25(9). – P. 899–910.

332. Li-Zulanov, N.S. Effect of chiral polyhydrochromenes on cannabinoid system. / I.V. Il'ina, A. Chicca, P. Schenker, et al. // Medicinal Chemistry Research. – 2019. – V. 28. – P. 450-464.

333. Loeb, D.S. Management of gastroduodenopathy associated with use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs / D.A. Ahlquist, N.J. Talley. // Mayo Clin. Proc. – 1992. – V. 67. – P. 354-364.

334. Loeser, J.D. The Kyoto protocol of IASP basic pain terminology. // R.D. Treede. // Pain. – 2008. – V. 137. – P. 473-477.

335. Long, J.Z. Selective blockade of 2-arachidonoylglycerol hydrolysis produces cannabinoid behavioral effects. / W.W. Li, L. Booker, J.J. Burston et al. // Nature Chemical Biology. – 2009a. – V. 5. – P. 37–44.

336. Long, J.Z. Dual blockade of FAAH and MAGL identifies behavioral processes regulated by endocannabinoid crosstalk in vivo. / D.K. Nomura, R.E. Vann, D.M. Walentyn et al. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. – 2009b. – V. 106. – P. 20270–20275.

337. Lotsch, J. Current evidence of cannabinoid-based analgesia obtained in preclinical and human experimental settings. / I. Weyer-Menkhoff, I. Tegeder. // Eur. J. Pain. - 2018. - V. 22. - P. 471-484.

338. LoVerme, J. Rapid broad-spectrum analgesia through activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α . / R. Russo, G. La Rana, J. Fu et al. // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2006. – V. 319. – P.1051–1061.

339. Lucido, M.J. Crystal structure of aspirin-acetylated human cyclooxygenase-2: insight into the formation of products with reversed stereochemistry. / B.J. Orlando, A.J. Vecchio, M.G. Malkowski. // Biochemistry. – 2016. – V. 55. – P. 1226-1238.

340. Luk, K.C. Pathological α -synuclein transmission initiates Parkinson-like neurodegeneration in nontransgenic mice / K.C. Luk, V. Kehm, J. Carroll et al. // Science. – 2012. – V. 338(6109). – P. 949–953.

341. Mackey, C. The anticonvulsants market. // Nature Reviews. – 2010. – V. 9. – P. 265-266.

342. Mahmood, I. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of selegiline. An update / I. Mahmood // Clin. Pharmacokinet. – 1997. – V. 33(2). – P. 91–102.

343. Mahmoodi, M. Carvacrol ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis through modulating pro- and anti-inflammatory cytokines. / H. Amiri, F. Ayoobi, M. Rahmani et al. // Life Science. - 2019. - V. 219. - P. 257-263.

344. Maltzman T.H. Anti-carcinogenic activity of d-limonene during the initiation and promotion/progression stages of DMBA-induced rat mammary carcinogenesis. // J.L. Boston, M.A. Tanner, M.N. Gould. // Carcinogenesis. - 1988. - V. 9(2). - P. 331-332.

345. Manayi, A. Natural terpenoids as a promising source for modulation of GABAergic system and treatment of neurological diseases. / S.M. Nabavi, M. Daglia, S. Jafari. // Pharmacol. Rep. – 2016. – V. 68. – P. 671-679.

346. Manzanares, J. Pharmacological and biochemical interactions between opioids and cannabinoids. / J. Manzanares, J. Corchero, J. Romero, et al // Trends Pharmacol. Sci. - 1999. - V20. - P. 287-294.

347. Mao, Q.-Q. Paeoniflorin protects against NMDA-induced neurotoxicity in PC12 cells via Ca^{2+} antagonism. / X.-M. Zhong, Z.-Y. Li, Z. Huang. // Phytother. Res. – 2011. – V. 25. – P. 681- 685.

348. Marrasi-Uberti, E. The experimental gastric ulcer from histamin in guinea-pigs. Rept. II. Methodology for biologically controlling the anti-ulcer activity of drugs. / C. Turba. // Med. Exptl. – 1961. – V. 5 (1). – P. 9-14.

349. Marrs, W.R. The serine hydrolase ABHD6 controls the accumulation and efficacy of 2-AG at cannabinoid receptors. / J.L. Blankman, E.A. Horne, A. Thomazeau et al. // Nature Neuroscience. – 2010. – V. 13. – P. 951–957.

350. Marshall, K. Pharmacotherapies for cannabis dependence. / L. Gowing, R. Ali, B.L. Foll. // Cochrane database of systematic reviews. - 2014. - V. 12. - P. 1-51.

351. Martini, L. The role of mu opioid receptor desensitization and endocytosis in morphine tolerance and dependence. / J.L. Whistler. // Curr. Opin. Neurobiol. – 2007. – V. 17. – P. 556-564.

352. Martinez-Martin, P. Chronic subcutaneous infusion therapy with apomorphine in advanced Parkinson's disease compared to conventional therapy: a real life study of non-motor effect / P. Martinez-Martin, P. Reddy, A. Antonini et al. // J. Parkinsons Dis. – 2011. – V. 1(2). – P. 197–203.

353. Marzo, A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of safinamide, a neuroprotectant with antiparkinsonian and anticonvulsant activity / A. Marzo, L. Dal Bo, N.C. Monti et al. // Pharmacol. Res. – 2004. – V. 50(1). – P. 77–85.

354. Max, M.B. Antidepressants, muscle relaxants, and N-methyl-D-aspartate receptor antagonists. In: Bonica's management of pain. 3rd ed./ I.H. Gilron. // Philadelphia. – Lippincott Williams & Wilkins. – 2000. – P. 1710-1726.

355. McCurdy, C.R. Analgesic substances derived from natural products (natureceuticals). / S.S. Scully. // *Life Sciences*. – 2005. – V. 78. – P. 476-484.

356. McGrath, P.A. Psychological aspects of pain perception. // *Arch. Oral Biol.* – 1994. – V. 39. – P. 55-62.

357. Mechoulam, R. The absolute configuration of delta-1-tetrahydrocannabinol, the major active constituent of hashish. / Y. Gaoni. // *Tetrahedron Letters*. – 1967. – V. 12. – P.1109–1111.

358. Mechoulam, R. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. / S. Ben-Shabat, L. Hanus, M. Ligumsky, et al. // *Biochem Pharmacol.* – 1995. – V.50. – N 1. – P. 83-90.

359. Melamed, E. Levodopa toxicity and apoptosis / E. Melamed, D. Offen, A. Shirvan et al. // *Ann. Neurol.* – 1998. – V. 44(3). – Suppl. 1. – P. 149–154.

360. Melo, M.S. Antinociceptive effect of citronellal in mice. / L.C.S. Sena, F.J.N. Barreto, L.R. Bonjardim, et al. // *Pharmaceutical Biology*. – 2010. – V. 48 (4). – P. 411-416.

361. Melo, M.S. Bioassay-guided evaluation of central nervous system effects of citronellal in rodents. / M.T. de Santana, A.G. Guimaraes, R.S. Siqueira, et al. // *Braz. J. Pharm.* – 2011. – V. 21 (4). – P. 697-703.

362. Melzack, R. Pain: past, present and future. // *Can. J. Exp. Psychol.* – 1993. – V. 47. – P.615—629.

363. Merskey, H. Pain terms: a list with definitions and notes on usage. Recommended by the IASP Subcommittee on Taxonomy. / D. Albe Fessard, J.J. Bonica, A. Carmon, et al. // *Pain*. – 1979. – V. 6. – P. 249-252.

364. Merskey, H., Classification of Chronic Pain. Second Edition. / N. Bogduk. // *IASP Press*. – Sattle. – 1994. – P. 209-214.

365. Mezzaroba, L. The role of zinc, copper, manganese and iron in neurodegenerative diseases / L. Mezzaroba, D.F. Alfieri, A.N. Colado Simão et al. // *Neurotoxicology*. – 2019. – V. 74. – P. 230–241.

366. Millan, M.J. The induction of pain: an integrative review. // *Progress in Neurobiology*. – 1999. – V. 57. – P. 1–164.

367. Millan, M.J. Descending control of pain. / M.J. Millan. // *Prog. Neurobiol.* - 2002. - V. 66. - P.; 355-474.

368. Mínguez-Mínguez, S. Rasagiline in Parkinson's disease: a review based on meta-analysis of clinical data / S. Mínguez-Mínguez, J. Solís-García Del Pozo, J. Jordán // *Pharmacol. Res.* – 2013. – V. 74. – P. 78–86.

369. Miranda, B.R. Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. / J.T. Greenamyre. // *Oxidat. Stress and Redox Sign. In Park. Dis.* – 2017. – P. 1-26.

370. Miyazawa, M. Inhibition of acetylcholinesterase activity by monoterpenoids with a p-mentane skeleton. / H. Watanabe, H. Kameoka. // *J. Agric. Food Chem.* - 1997. - V. 45. - P. 677-679.

371. Miyazawa, M. Metabolism of (+)- and (–)-Limonenes to Respective Carveols and Perillyl Alcohols by CYP2C9 and CYP2C19 in Human Liver Microsomes. / M. Shindo, T. Shimada. // *Drug metabolism and disposition*. – 2002. – V. 30 (5). – P. 602-607.

372. Moghaddam, S.H. Neurotransmission systems in Parkinson's disease / H. Sanjari Moghaddam, A. Zare-Shahabadi, F. Rahmani et al. // *Rev. Neurosci.* – 2017. – V. 28(5). – P. 509–536.

373. Mohajjel Nayebi A., Sheidaei H. Bisperone improves haloperidol-induced Parkinson disease in mice through 5-HT_{1A} receptors // *DARU*. – 2010. – V. 18 (1). – P. 41-45.

374. Mollereau, C. ORL1, a novel member of the opioid receptor family. Cloning, functional expression and localization. / M. Parmentier, P. Mailleux, J.L. Butour, e al. // *FEBS Lett.* – 1994. – V. 14. – P. 33-38.

375. Morgan, M.J. Dopamine receptor subtypes and formalin test analgesia. / K.B. Franklin. // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 1991. – V. 40. – P. 317-322.

376. Morpurgo C., Theobald W. Influence of antiparkinson drugs and amphetamine on some pharmacological effects of phenothiazine derivatives used as neuroleptics // *Psychopharmacologia.* – 1964. – V. 6. – P.178–191

377. Monzani, E. Dopamine, oxidative stress and protein-quinone modifications in Parkinson's and other neurodegenerative diseases / E. Monzani, S. Nicolis, S. Dell'Acqua et al. // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 2019. – V. 58(20). – P. 6512–6527.

378. Moore, N. Lessons from the fatal French study BIA. // *BMJ.* – 2016. – V. 353. – P. 10–2474

379. Moquich, A. Impaired thermosensation in mice lacking TRPV3, a heat and camphor sensor in the skin. / S.W. Hwang, T.J. Earley, M.J. Petrus. // *Science.* - 2005. - V. 307. - P. 1468-1472.

380. Mota, C.M.D. Citral-induced analgesia is associated with increased spinal serotonin, reduced spinal nociceptive signaling, and reduced systemic oxidative stress in arthritis. / C. Rodrigues-Santos, R.O.G. Carolino, J.A. Anselmo-Franci et al. // *J. Ethnopharmacology* . - 2020. - V. 250. - P. 112486

381. Muhammad, A. Nonopioid Analgesics. / M.A. Munir, N. Enany, J-M. Zhang. // *Anesthesiol. Clin.* – 2007. – V. 25 (4). – P. 761-774.

382. Mukherjee, P.K. Acetylcholinesterase inhibitors from plants. / V. Kumar, M. Mal, P.J. Houghton. // *Phytomedicine.* – 2007. – V. 14. – P. 289-300.

383. Müller, T. Evaluating ADS5102 (amantadine) for the treatment of Parkinson's disease patients with dyskinesia / T. Müller, W. Kuhn, J.D. Möhr // *Expert Opin. Pharmacother.* – 2019. – V. 20(10). – P. 1181–1187.

384. Munro, S. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. / K.L. Thomas, M. Abushaar. // *Nature.* – 1993. – V. 365. – P. 61–65.

385. Naidu, P.S. D2-dopamine receptor and α 2-adrenoreceptor mediated analgesic response of quercetin. / A.Singh, S.K. Kulkarni. // Indian. J. Exp. Biol. – 2003. – V. 41. – P. 1400–1404.

386. Nalls, M.A. Large-scale meta-analysis of genome-wide association data identifies six new risk loci for Parkinson's disease / M.A. Nalls, N. Pankratz, C.M. Lill et al. // Nat. Genet. – 2014. – V. 46(9). – P. 989–993.

387. Nalwalka, J.W. Absence of 5-HT₃ and cholinergic mechanisms in improprian antinociception. / R. Svokosa, R. Leursb, L.B. Hougha. // Pharmacol. Biochem. Behav. – 2005. – V. 80. – P. 505-510.

388. Namer, B. TRPA1 and TRPM8 activation in humans: effects of cinnamaldehyde and menthol. / F. Seifer, H. O. Handwerker, C. Maihofner. // Neuroreport. – 2005. – V. 16(9). – P. 955-959.

389. Naoi, M. Functional mechanism of neuroprotection by inhibitors of type B monoamine oxidase in Parkinson's disease / M. Naoi, W. Maruyama // Expert Rev. Neurother. – 2009. – V. 9(8). – P. 1233–1250.

390. Navia-Paldanius, D. Increased tonic cannabinoid CB1R activity and brain region-specific desensitization of CB1R Gi/o signaling axis in mice with global genetic knockout of monoacylglycerol lipase. / N. Aaltonen, M. Lehtonen, J.R. Savinainen et al. // Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences. – 2015. – V. 77. – P. 180-188.

391. Nhu-Trang, T.T. Authenticity control of essential oils containing citronellal and citral by chiral and stable-isotope gas-chromatographic analysis. / H. Casabianca, M.F. Grenier-Loustalot. // Anal. Bioanal. Chem. – 2006. – V. 386. – P. 2141-2152.

392. Niphakis, M.J. Evaluation of NHS carbamates as a potent and selective class of endocannabinoid hydrolase inhibitors. / A.B. Coggnetta, J.W. Chang, M.W. Buczynski et al. // ACS Chemical Neuroscience. – 2013a. – V. 4(9). – P. 1322-1332.

393. Niphakis, M.J. O-Hydroxyacetamide carbamates as a highly potent and selective class of endocannabinoid hydrolase inhibitors. / D.S. Johnson, T.E. Ballard, C. Stiff et al. // ACS Chemical Neuroscience. – 2013b. – V. 3. – P. 418–426.
394. Niv, D. Pain and quality of life. / S. Kreitler. // Pain Pract. – 2001. – V. 1. – P. 150-161.
395. Noyce, A.J. Meta-analysis of early non-motor features and risk factors for Parkinson disease / A.J. Noyce, J.P. Bestwick, L. Silveira-Moriyama et al. // Ann. Neurol. – 2012. – V. 72(6). – P. 893–901.
396. Nutt, J.G. Continuous dopamine-receptor stimulation in advanced Parkinson's disease / J.G. Nutt, J.A. Obeso, F. Stocchi // Trends Neurosci. – 2000. – V. 23(10). – P. 109 – 115.
397. Nyilas, R. Molecular architecture of endocannabinoid signaling at nociceptive synapses mediating analgesia. / L.C. Gregg, K. Mackie, M. Watanabe et al. // European Journal of Neuroscience. – 2009. – V. 29. – P.1964–1978.
398. Okine, B.N. Lack of effect of chronic pre-treatment with the FAAH inhibitor URB597 on inflammatory pain behaviour: evidence for plastic changes in the endocannabinoid system. / L.M. Norris, S. Woodhams, J. Burston et al. // Br. J. Pharmacol. – 2012. – V. 167. – P. 627–640.
399. Olanow, C.W. A multicenter double-blind placebo-controlled trial of pergolid as an adjunct to Sinemet in Parkinson's disease / C.W. Olanow, S. Fahn, M. Muentert et al. // Mov. Disord. – 1994. – V. 9(1). – P. 40–47.
400. Olanow, C.W. Drug insight: Continuous dopaminergic stimulation in the treatment of Parkinson's disease / C.W.Olanow, J.A. Obeso, F. Stocchi // Nat. Clin. Pract. Neurol. – 2006. – V. 2(7). – P. 382–392.
401. Olanow, C.W. Parkinson's disease and alpha-synuclein: is Parkinson's disease a prion-like disorder? / C.W. Olanow, P. Brundin // Mov. Disord. – 2013. – V. 28(1). – P. 31–40.

402. Onaivi, E.S.. Functional Neuronal CB2 Cannabinoid Receptors in the CNS. // *Current Neuropharmacology*. – 2011. – V. 9. – P. 205-208.
403. Ortiz, J.G. Effects of *Valeriana officinalis* extracts on [3H]Flunitrazepam binding, synaptosomal [3H]GABA uptake, and hippocampal [3H]GABA release. / J. Nieves-Natal, P. Chavez. // *Neurochem. Res.* – 1999. – V. 24. – P. 1373-1378.
404. Ortiz, M.I. The combination of naproxen and citral reduces nociception and gastric damage in rats. / M.L. Ramirez-Montiel, M.P. Gonzalez-Garcia, H.A. Ponce-Monter, et al. // *Arch. Pharm. Res.* – 2010a. – V. 33 (10). – P. 1691- 1697.
405. Ortiz, M.I. Synergistic effect of the interaction between naproxen and citral on inflammation in rats. / M.P. Gonzalez-Garcia, H.A. Ponce-Monter, G. Castaneda-Hernandez, et al. // *Phytomedicine*. – 2010b. – V. 18. – P. 74-79.
406. Ossowska K., The role of strial glutamate receptors in models of Parkinson's disease. / E. Lorenc-Koci, J. Konieczny et al. // *Amino Acids*. – 1998. – V. 14. – P. 11-15.
407. Outeiro, T. F. Current and Future Therapeutic Strategies for Parkinsons Disease. / J. Ferreira. // *Curr. Pharm. Des.* – 2009. – V. 15. – P. 3968-3976.
408. Owens, D.F. Is there more to GABA than synaptic inhibition? / A.R. Kriegstein. // *Nat. Rev.Neurosci.* – 2002. – V. 3. – P. 715-727.
409. Ozek, G. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Tanacetum cadmium* (Boiss.) Heywood subsp. orientale Grierson. / T. Ozek, G. Iscan, K.H.C. Baser, et al. // *J. Essent. Oil Res.* – 2007. – V. 9. – P. 392-395.
410. Paganoni, S. Urate as a marker of risk and progression of neurodegenerative disease / S. Paganoni, M.A. Schwarzschild // *Neurotherapeutics*. – 2017. – V. 14(1). – P. 148–153.
411. Panthong, A. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of thr extract of gamboge from *Garcinia hanburyi* Hook. / P. Norkaew, D.

Kanjanapothi, T. Taesotikul et al. // J. Ethnopharm. - 2007. - V. 111(2). - P. 225-240.

412. Parchinsky, V. Microwave-assisted aza-Prins reaction. Part 2: straightforward access to 2,6-disubstituted 1-azaadamantanes. / A. Shumsky, M. Krasavin. // Tetrahed. Lett. – 2011. – V. 52 (52). – P. 7161–7163.

413. Patel, T. Therapy of Pruritus. / G. Yosipovitch. // Expert Opin. Pharmacother. - 2010. - V. 11(10). - P. 1673-1682.

414. Pathan, H. Basic opioid pharmacology: an update. / J. Williams. // Br. J. Pain. – 2012. – V. 6. – P. 11-16.

415. Pattij, T. Cannabinoid modulation of executive functions. / J. Wiskerke, A.N.M. Schoffelmeer. // European Journal of Pharmacology. – 2008. – V. 585. – P. 458–463.

416. Pavlova, A.V. Monoterpenoids and their Derivatives Against CNS Disorders. / K.P. Volcho, T.G. Tolstikova. // Application of Front. CNS Drug Discov. – 2013. – V. 2. – P. 334-380.

417. Pawsey, S. Tolerability and pharmacokinetics of FAAH inhibitor V158866: A double-blind, randomised, placebo controlled phase I study in healthy volunteers. / M. Wood, H. Browne, K. Donaldson et al. // Safety, Drugs in R&D. – 2016. – V. 16. – P. 181–191.

418. Peana, A.T. Antiinflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. / P.S. D'Aquila, F. Panin, G. Serra, et al. // M.D.L. Phytomedicine. – 2002. – V. 9. – P. 721-726.

419. Peana, A.T. Profile of spinal and supra-spinal antinociception of (–)-linalool. / M.G. De Montis, E. Nieddu, M.T. Spano, et al. // European Journal of Pharmacology. – 2004. – V. 485. – P. 165-174.

420. Penttinen, A. M. Characterization of a new low-dose 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease in rat. / I. Suleymanova, K. Albert, Anttila. // J. Neurosci. Res. – 2016. – V. 94 (4). – P. 318–328.

421. Perez-Lloret, S. Piribedil for the treatment of motor and non-motor symptoms of Parkinson disease / S. Perez-Lloret, O. Rascol // *CNS Drugs*. – 2016. – V. 30(8). – P. 703–717.

422. Perez-Lloret, S. Pharmacotherapies for Parkinson's disease symptoms related to cholinergic degeneration / S. Perez-Lloret, M.C. Peralta, F.J. Barrantes // *Expert Opin. Pharmacother.* – 2016. – V. 17(18). – P. 2405–2415.

423. Pertwee, R.G. The Therapeutic Potential of Drugs That Target Cannabinoid Receptors or Modulate the Tissue Levels or Actions of Endocannabinoids. // *The AAPS Journal*. – 2005. – V. 7. – P. 625-654.

424. Pertwee, R.G. Emerging strategies for exploiting cannabinoid receptor agonists as medicines. // *British Journal of Pharmacology*. – 2009. – V. 156. – P. 397–411.

425. Petrozzi, L. Mitochondria and neurodegeneration / L. Petrozzi, G. Ricci, N.J. Giglioli et al. // *Biosci. Rep.* – 2007. – V. 27(1–3). – P. 87–104.

426. Piccinelli A.C. Limonene reduces hyperalgesia induced by gp120 and cytokines by modulation of IL-1 β and protein expression in spinal cord of mice. / P.N. Morato, M.S. Barbosa. J.Croda et al. // *Life science*. - 2017. - V. 174. - P. 28-34.

427. Pignatelli, M. Role of dopamine neurons in reward and aversion: a synaptic plasticity perspective / M. Pignatelli, A. Bonci // *Neuron*. – 2015. – V. 86(5). – P. 1145–1157.

428. Pinna, A. Adenosine A2A receptor antagonists improve deficits in initiation of movement and sensory motor integration in the unilateral 6-hydroxydopamine rat model of Parkinson's disease / A. Pinna, S. Pontis, F. Borsini et al. // *Synapse*. – 2007. – V. 61(8). – P. 606–614.

429. Pinna, A. Adenosine A2A receptor antagonists in Parkinson's disease: progress in clinical trials from the newly approved istradefylline to drugs in early development and those already discontinued / A. Pinna // *CNS Drugs*. – 2014. – V. 28(5). – P. 455–474.

430. Plevkova, J. The role of trigeminal nasal TRPM8-expressing afferent neurons in the antitussive effects of menthol. / M. Kollarik, I. Poliacek, M. Brozmanova et al. // J. Appl. Physiol. - 1985. - V. 115(2). - P. 268-274.

431. Podurriel, S. Tremorolytic effects of safinamide in animal models of drug-induced parkinsonian tremor / S. Podurriel, L.E. Collins-Praino, S. Yohn et al. // Pharmacol. Biochem. Behav. – 2013. – V. 105. – P. 105–111.

432. Pogarell, O. Pramipexole in patients with Parkinson's disease and marked drug resistant tremor: a randomized, double blind, placebo controlled multicenter study / O. Pogarell, T. Gasser, J.J. van Hilten et al.// J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. – 2002. – V. 72(6). – P. 713–720.

433. Ponsen, M.M. Olfactory testing combined with dopamine transporter imaging as a method to detect prodromal Parkinson's disease / M.M. Ponsen, D. Stoffers, E.Ch. Wolters et al. // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. – 2010. – V. 81(4). – P. 396–399.

434. Porres-Martinez, M. *In vitro* neuroprotective potential of the monoterpenes α -pinene and 1,8-cineole against H₂O₂-induced oxidative stress in PC12 cells. // E. Gonzalez-Burgos, M.E. Carretero, M.P. Gomez-Serranillos. // Zeitschrift für Naturforschung. - 2016. - V. 71(7-8). - P. 191-199.

435. Porter, J. Addiction rare in patients treated with narcotics./ H. Jick. // N. Engl. J. Med. – 1980. – V. 302(2). – P. 123.

436. Postuma, R.B. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease / R.B. Postuma, D. Berg, M. Stern et al. // Mov.Disord. – 2015. – V. 30(12) – P. 1591–1599.

437. Postuma, R.B. Parkinson risk in idiopathic REM sleep behavior disorder: preparing for neuroprotective trials / R.B. Postuma, J.F. Gagnon, J.A. Bertrand et al. // Neurology. – 2015. – V. 84(11). – P. 1104–1113.

438. Premkumar, L. Transient receptor potential channels as targets for phytochemicals. // ACS Chem. Neurosci. – 2014. – V. 5. – P. 1117-1130.

439. Quintans-Junior, L.J. Phytochemical screening and anticonvulsant activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) leaf essential oil in rodents. / T.T. Souza, B.S. Leite, N.M.N. Lessa, et al. // *Phytomedicine*. – 2008. – V. 15. – P. 619-624.
440. Quintans-Junior, L.J. Citral reduces nociceptive and inflammatory response in rodents. / A.G. Guimaraes, M.T. Santana, B.E.S. Araujo, et al // *J. Pharm.* – 2011a. – V. 21 (3). – P., 497-502.
441. Quintans-Junior, L.J. -Terpineol reduces nociceptive behavior in mice. / M.G. Oliveira, M.F. Santana, M.T. Santana, et al. // *Pharm. Biol.* – 2011b. V. 49 (6). – P. 583-586.
442. Quock, R.M. The δ -Opioid Receptor: Molecular Pharmacology, Signal Transduction, and the De termination of Drug Efficacy. / T.H. Burkey, E. Varga, Y. Hosohata, et al. // *Pharmacol. Rev.* – 1999. – V. 51. – N 3. – P. 503-532.
443. Rao, S.V. Evidence of neuroprotective effects of saffron and crocin in a *Drosophila* model of parkinsonism. / Miralidhara, S.C. Yeniseti, P. S. Rajini. // *NeuroToxicology*. - 2016. - V. 52. - P. 230-242.
444. Rao, V.S.N. Effect of myrcene on nociception in mice. / A.M.S. Menezes, G.S.B. Viana. // *J. Pharm. Pharmacol.* – 1990. V. 42. P. 877-878.
445. Rahn, E.J. Cannabinoids as Pharmacotherapies for Neuropathic Pain: From the Bench to the Bedside. / A.G. Hohmann. // *Neurotherapeutics*. – 2009. – V. 6. – P. 713–737.
446. Rees, K. Non-steroidal anti-inflammatory drugs as disease-modifying agents for Parkinson's disease: evidence from observational studies / K. Rees, R. Stowe, S. Patel et al. // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2011. – V. 9(11). – P. CD008454.
447. Regan, J. W. Metabolism of (+)-limonene in rats./ L. F. Bjeldanes. // *J. Agric. Food Chem.* – 1976. – V. 24 (2). – P. 377–380.

448. Rizor, A. Astrocytic oxidative/nitrosative stress contributes to Parkinson's disease Pathogenesis: the dual role of reactive astrocytes / A. Rizor, E. Pajarillo, J. Johnson et al. // *Antioxidants* (Basel). – 2019. – V. 8(8). – P. E265.

449. Rodríguez-Violante, M. Who can diagnose Parkinson's disease first? Role of pre-motor symptoms /M. Rodríguez-Violante, R. Zerón-Martínez, A. Cervantes-Arriaga et al. // *Arch. Med. Res.* – 2017. – V. 48(3). – P. 221–227.

450. [Rogers](#), D. Bradyphrenia in Parkinson's disease and psychomotor retardation in depressive illness. An experimental study. / [A.J. Lees](#), [E. Smith](#). [M. Trimble](#), et al. // *Brain*. – 1987. – V.110 (3). – P. 761-776.

451. Rotigotine transdermal patch improves swallowing in dysphagic patients with Parkinson's disease / M. Hirano, C. Isono, H. Sakamoto et al.// *Dysphagia*. – 2015. – V. 30(4). – P. 452–456.

452. Rubino, T. Endocannabinoids and mental disorders. / E. Zamberletti, D. Parolaro. // *Handb. Exp. Pharmacol.* – 2015. – V. 231. – P. 261-283.

453. Russo, R. The fatty acid amide hydrolase inhibitor URB597 (cyclohexylcarbamic acid 3'-carbamoylbiphenyl-3-yl ester) reduces neuropathic pain after oral administration in mice. / J. LoVerme, G. La Rana, T.R. Compton et al. // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2007. – V. 322. – P. 236–242.

454. Russo, R. Implication of limonene and linalyl acetate in cytotoxicity induced by bergamot essential oil in human neuroblastoma cells. / A. Ciociaro, L. Berliocchi, M.G.V. Cassiano. // *Fitoterapia*. - 2013. - V. 89. - P. 48-57.

455. Saarenpaa, T. Zebrafish GDNF and its co-receptor GFR α 1 activate the human RET receptor and promote the survival of dopaminergic neurons in vitro. / K. Kogan, Y. Sidorova, A. Mahato, et al. // *PLoS One*. – 2017. – V. 12 (5). – No. e0176166.

456. Sagar, D. Dynamic regulation of the endocannabinoid system: implications for analgesia. / A.G. Gaw, B. Okine, S. Woodhams. // *Molecular Pain*. – 2009. – V. 5 (59). – P. 1-13.

457. Sagar, D.R. Endocannabinoid regulation of spinal nociceptive processing in a model of neuropathic pain. / M. Jhaveri, D. Richardson, R.A. Gray et al // *European Journal of Neuroscience* . – 2010. – V. 31(8). – P. 1414-1422.

458. Sagar, D.R. Dynamic changes to the endocannabinoid system in models of chronic pain. / J.J. Burston, S.G. Woodhams, V. Chapman. // *Philosophical transactions of the royal society B: Biological Sciences* . – 2012. – V. 367. – P. 3300–3311.

459. Santana, H.S.R. Anti-inflammatory activity of limonene in the prevention and control of injuries in the respiratory system: A systematic review. // F.O. de Carvalho, E.R. Silva, N.G.L. Santos et al. // *Curr. Pharm. Des.* – 2020. – V. 26(18). – P. 2182-2191.

460. Santana, M.F. p-Cymene reduces orofacial nociceptive response in mice. / L.J. Quantans-Junior, S.C.H. Cavalcanti, M.G.B. Oliveria, et al. // *Braz. J. Pharm.* – 2011. – V. 21 (6). – P. 1138-1143.

461. Santos, F.A. Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. / V.S.N. Rao. // *Phytother. Res.* – 2000. – V. 14. – P. 240-244.

462. Santos, P.L. Citronellol, a monoterpene alcohol with promising pharmacologicalactivities - A systematic review. / J.P.S.C.F. Matos, L. Picot, J.R.G.S. Almeida et al. // *Food and Chemical Toxicol.* - 2019. - V. 123. - P. 459-469.

463. Sasaki, M. Effects of 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors on the modulation of nociceptive transmission in rat spinal cord according to the formalin test. / K. Ishizaki, H. Obata, F. Goto. // *Eur. J. Pharmacol.* - 2001. - V. 424. - P. 45–52.

464. Sari, M. H. M. Contribution of dopaminergic and adenosinergic systems in the antinociceptive effect of p-chloro-selenosteroid. / A. C. G. Souza, S. G. Rosa, et al. // *European Journal of Pharmacology.* – 2014. – V. 725. – P. 79–86.

465. Sasaki, F. The leukotriene receptors as therapeutic targets of inflammatory diseases. / T.Yokomizo. // *Int. Immunol.* – 2019. – V. 31. – P. 607-615.

466. Saura Marti, J. Molecular neuroanatomy of MAO-A and MAO-B / J. Saura Marti, R. Kettler, M. Da Prada et al. // *J. Neural Transm. Suppl.* – 1990. – V. 32. – P. 49–53.

467. Savitt, J. M. Diagnosis and treatment of Parkinson disease: molecules to medicine. / V. L. Dawson, T. M. Dawson. // *J. Clin. Invest.* – 2006. – V. 116 (7). – P. 1744-1754.

468. Sawada, H. Amantadine for dyskinesias in Parkinson's disease: a randomized controlled trial / T. Oeda, S. Kuno et al. // *PLoS One.* – 2010. – V. 5(12). – P. e15298.

469. Schlosburg, J. Inhibitors of endocannabinoid-metabolizing enzymes reduce precipitated withdrawal responses in THC dependent mice. / B. Carlson, D. Ramesh, R. Abdullah et al. // *The AAPS Journal.* – 2009. – V. 11. – P. 342–352.

470. Schober, A. Classic toxin-induced animal models of Parkinson's disease: 6-OHDA and MPTP / A. Schober // *Cell Tissue Res.* – 2004. – V. 318(1). – P. 215–224.

471. Schmidt, D. What is the evidence that oxcarbazepine and carbamazepine are distinctly different antiepileptic drugs? / C.E. Elger. // *Epilepsy Behav.* – 2004. – V. 5. – P. 627-635.

472. Schwab, R.S. Amantadine in the treatment of Parkinson's disease / R.S. Schwab, A.C. England Jr, D.C. Poskanzer et al. // *JAMA.* – 1969. – V. 208(7). – P. 1168–1170.

473. Senderovich, H. Is there a role for combined use of gabapentin and pregabalin in pain control? Too good to be true? / G. Jeyapragasan. // *Curr. Med. Res. Opin.* – 2018. – V. 34. – P. 677-682.

474. Sequeira, H.D.S. α -Phellandrene, a cyclic monoterpene, attenuates inflammatory response through neutrophil migration inhibition and mast cell

degranulation. / B.S. Neto, D.P. Sousa, B.S. Gomes et al. // Life Science. - 2016. - V. 160. - P. 27-33.

475. Serra, P. A. The MPTP mouse model: Cues on DA release and neural stem cell restorative role. / S. Pluchino, B. Marchetti. // Parkins. and Rel. Dis. – 2008. – V. 14. – P. 189-193.

476. Serpell, M. Neuropathic pain responds better to increased doses of pregabalin: an in-depth analysis of flexible-dose clinical trials. / M. Latymer, M. Almas, M. Ortiz et al. // J. Pain Res. – 2017. – V. 10. – P. - 1769-1776.

477. Serrano, I. GABAergic and cholinergic mediation in the antinociceptive action of homotaurine. / R. M. Ruiz, J. S. Serrano, A. Fernandes. // Gen. Pharmac. – 1992. – V. 23 (3). – P. 421-426.

478. Serrano, M.I. A. Role of GABA-A and GABA-B receptors and peripheral cholinergic mechanisms in the antinociceptive action of taurine. / J.S. Serrano, M.R. Guerrero, Gen. Fernandes. // Pharmacol. – 1994. – V. 25. – P. 1123-1129.

479. Shin, H.S. Metabolism of selegiline in humans. Identification, excretion, and stereochemistry of urine metabolites / H.S. Shin // Drug Metab. Dispos. – 1997. – V. 25(6). – P. 657–662.

480. Shin, S.W. Antipsychotics for patients with pain. / J.S. Lee, S. Abdi, S.J. Lee et al. // Korean J. Pain. – 2019. – V. 32. – P. 3-11.

481. Shiozaki, S. Actions of adenosine A2A receptor antagonist KW-6002 on drug-induced catalepsy and hypokinesia caused by reserpine or MPTP /S. Shiozaki, S. Ichikawa, J. Nakamura et al. // Psychopharmacology (Berl). – 1999. – V. 147(1). – P. 90–95.

482. Shipton, E.A. Flagging the pain: preventing the burden of chronic pain by identifying and treating risk factors in acute pain. / B. Tail. // Eur. J. Anaesthesiol. – 2005. – V. 22(6). – P. 405-412.

483. Siani, A.C. Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. / M.F.S. Ramos, O.

Menezes-de-Lima, R. Ribeiro-dos-Santos et al. // J. Ethopharmacology. - 1999. - V. 66(1). - P. 57-69.

484. Siddique, Y.H. Protective effect of geraniol on the transgenic Drosophila model of Parkinson's disease. / F. Naz, S. Jyoti, F. Ali. // Env. Tox. Pharm. - 2016. - V. 43. - P. 225-231.

485. Sidorova, Y. A. Neuroregeneration in Parkinson's disease: from proteins to small molecules. / K. P. Volcho, N. F. Salakhutdinov. // Current Neuroparmacology. – 2019. – V. 17 (3). – P. 268–287.

486. Sieghart, W. Structure and pharmacology of γ -aminobutyric acid A receptor subtypes. // Pharmacol. Rev. – 1995. – V. 47. – P. 181-234.

487. Silva, M.I. Central nervous system activity of acute administration of isopulegol in mice. / M.R. de Aquino Neto, P.F. Teixeira Neto, B.A. Moura, et al. // Pharmacol. Biochem. Behav. – 2007. – V. 88 (2). – P. 141-147.

488. Silva, M.I. Effects of isopulegol on pentylenetetrazol-induced convulsions in mice: possible involvement of GABAergic system and antioxidant activity. / M.A. Silva, M.R. de Aquino Neto, B.A. Moura, et al. // Fitoterapia. – 2009. – V. 80 (8). – P. 506- 513.

489. [Singh, S.](#) Evaluation of anti-inflammatory potential of fixed oil of Ocimum sanctum (Holybasil) and its possible mechanism of action. / D.K. Majumdar, H.M. Rehan. // [J. Ethnopharmacol.](#) – 1996. – V. 54 (1). – P. 19-26.

490. Shoulson, I. Impact of sustained deprenyl (selegiline) in levodopa-treated Parkinson's disease: a randomized placebo-controlled extension of the deprenyl and tocopherol antioxidative therapy of parkinsonism trial / I. Shoulson, D. Oakes, S. Fahn et al. // Ann. Neurol. – 2002. – V. 51(5). – P. 604–612.

491. Slamenova, D. Investigation of anti-oxidative, cytotoxic, DNA-damaging and DNA-protective effects of plant volatiles eugenol and borneol in human-derived HepG2, Caco-2 and VH10 cell lines. / E. Horvathova, L. Wsolova, M. Sramkova. // Mutation Research. – 2009. – V. 677. – P. 46-52.

492. Smith, D.K. Aspirin for primary prevention: USPSTF recommendations for CVD and colorectal cancer. / T. Demetriou, C. Weber. // J. Fam. Pract. – 2019. – V. 68. – P. 146-151.
493. Smith, H.S. Peripherally-acting opioids. // Pain Physician – 2008a. – V. 11. – P. 121-132.
494. Smith, H.S. Combination Opioid Analgesics. // Pain Physician. – 2008b. – V. 11. – P. 201-214.
495. Smith, H.S. Potential analgesic mechanisms of acetaminophen. // Pain. Physician. – 2009. – V. 12. – P. 269-280.
496. Solomon, V.R. GABA allosteric modulators: An overview of recent developments in non-benzodiazepine modulators. / V.J. Tallapragada, M. Cherib, G.A.R. Johnston et al. // Europ. J. Med. Chem. - 2019. - V. 171. - P. 434-461.
497. Starowicz, K. Non-psychotropic analgesic drugs from the endocannabinoid system: “Magic bullet” or “multiple-target” strategies? / V. Di Marzo. // European Journal of Pharmacology. – 2013. – V. 716 (1-3). – P. 41-53.
498. Stella, N. A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. / .P Schweitzer, D. Piomelli. // Nature. – 1997. – V. 388. – P. 773–778.
499. Stocchi, F. Ropinirole 24-hour prolonged release and ropinirole immediate release in early Parkinson's disease: a randomized, double-blind, non-inferiority crossover study / F. Stocchi, B.P. Hersh, B.L. Scott et al. // Curr. Med. Res. Opin. – 2008. – V. 24(10). – P. 2883–2895.
500. Suganuma, T. Change of beta-endorphin concentration in rat brain after administration of indomethacin or carrageenin. / T. Suzuki, M. Oshimi, M. Hanano. // Biol. Pharm. Bull. – 1998. – V. 21. – P. 756-760.
501. Sulzer, D. Intraneuronal dopamine-quinone synthesis: a review / D. Sulzer, L. Zecca // Neurotox. Res. – 2000. – V. 1(3). – P. 181–195.

502. Surmeier, D.J. Calcium and Parkinson's disease /D.J. Surmeier, P.T.Schumacker, J.D. Guzman et al. //Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2017. – V. 483(4). – P. 1013–1019.

503. Suslov, E. V. Compounds combining aminoadamantane and monoterpene moieties: cytotoxicity and mutagenic effects. / K.Yu. Ponomarev, A.D. Rogachev, M.A. Pokrovsky, et al. // Med. Chem. – 2015. – V. 11 (7). – P. 629-35.

504. Tappe-Theodor, A. A molecular basis of analgesic tolerance to cannabinoids. / N. Agarwal, I. Katona, T. Rubino et al. // The Journal of Neuroscience. – 2007. – V. 27. – P. 4165–4177.

505. Tarantilis, P.A. Determination of saffron (*Crocus sativus* L.) components in crude plant extract using high performance liquid chromatography-UVvisible photodiode-array detection-mass spectrometry. / G. Tsoupras, M. Polissiuo. // J. Chromatogr. – 1995. – V. 699. – P. 107-118.

506. Tager, A.M. BLT1 and BLT2: the leukotriene B(4) receptors. / A.D. Luster. // Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids. – 2003. – V. 69. – P. 123-134.

507. Tao, L. Search for the “Ideal Analgesic” in Pain Treatment by Engineering the Mu opioid Receptor. / P.Y. Law, H.H. Loh. // IUBMB Life. – 2010. – V. 62. (2). – P. 103-111.

508. Tchimene, M.K. Monoterpenes and Related Compounds from the Medicinal Plants of Africa. / C. O. Okunji, M. M. Iwu, V. Kuete. // Medicinal Plant Research in Africa. – 2013. – P. 1-32.

509. Teplov, G.V. Synthesis of new compounds combining adamantanamine and monoterpene fragments and their antiviral activity against influenza virus A(H1N1)pdm09. / E.V. Suslov, V.V. Zarubaev, A.A. Shtro, L.A. Karpinskaya, A.D. Rogachev, D.V. Korchagina, K.P. Volcho, N.F. Salakhutdinov, O.I. Kiselev // Lett. Drug. Des. Discov. – 2013. – V. 10 (6). – P.477-485.

510. Thomas, A. Duration of amantadine benefit on dyskinesia of severe Parkinson's disease / A. Thomas, D. Iacono, A.L. Luciano et al. // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. – 2004. – V. 75(1). – P. 141–143.

511. Tian, L.L. Protective effect of (\pm)-isoborneol against 6-OHDA-induced apoptosis in SH-SY5Y cells. / Z. Zhou, Q. Zhang, Y-N. Sun, et al. // Cell. Physiol. Biochem. – 2007. – V.20. – P. 1019-1032.

512. Torti, M. Are all dopamine agonists essentially the same? / M. Torti, D. Bravi, L. Vacca et al. // Drugs. – 2019. – V. 79(7). – P. 693–703.

513. Thomas, B. Parkinson's Disease: Pathogenesis and clinical aspects. / b.A. Stoker, et al. // Codon Publications Brisbane. – 2018. – P. 194.

514. Tolosa, E. History of levodopa and dopamine agonist in Parkinson's disease treatment. / M.J. Marti, F. Valldeoriola, J.L. Molinuevo. // Neurobiology. – 1998. – V. 50. – P. 2-10.

515. Tolstikova, T.G. (4S,5R,6R)-para-mentha-1,8-dien-5,6-diol is a new highly effective anticonvulsant agent. // A.V. Pavlova, M.P. Dolgikh, I.V. Il'ina, O.V. Ardashov, K.P. Volcho, N.F. Salakhutdinov, G.A. Tolstikov. // Doklady Biological Sciences. – 2009. – V. 429. – P. 1–3.

516. Torri, G. Analgesic effect and beta-endorphin and substance P levels in plasma after short-term administration of a ketoprofen-lysine salt or acetylsalicylic acid in patients with osteoarthritis. / M. Cecchetti, S. Bellometti, L. Galzigna. // Curr. Ther. Res. – 1995. – V. 56. – P. 62-69.

517. Torti, M. Are all dopamine agonists essentially the same? / D. Bravi, L. Vacca, F. Stocchi. // Drugs. - 2019. - V. 79(7). - P. 693-703.

518. Trescot, A.M. Opioid Pharmacology. / S. Datta, M. Lee, H. Hansen. // Pain Physician. – 2008. – V.11. – P. 133 – 153.

519. Tsuzuki, K. Menthol-induced Ca^{2+} release from presynaptic Ca^{2+} stores potentiates sensory synaptic transmission. / H. Xing, J. Ling, J.G. Gu. // J. Neurosci. - 2004. - V. 24(3). - P. 762-771.

520. Tysnes, O.B. Epidemiology of Parkinson's disease / O.B. Tysnes, A. Storstein // J. Neural Transm. (Vienna). – 2017. – V. 124(8). – P. 901–905.

521. Ultee, A. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. / E.P. Kets, E.J. Smid. // Appl. Environ. Microbiol. – 1999. – V. 65 – P. 4606–4610.

522. Umezū N. Ambulation-promotion effect of peppermint oil and identification of its active constituents. / A. Sakata, H. Ito. // Pharmacol. Biochem. Behav. – 2001. – V. 69. – P. 383–390.

523. Uversky, V.N. Metal-triggered structural transformations, aggregation, and fibrillation of human alpha-synuclein. A possible molecular link between Parkinson's disease and heavy metal exposure / V.N. Uversky, J. Li, A.L. Fink // J. Biol. Chem. – 2001. – V. 276(47). – P. 44284–44296.

524. Valdman, E. Evolution of anti-parkinsonian activity of monoterpenoid (1R,2R,6S)-3-methyl-6-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-3-ene-1,2-diol in various in vivo models. // I. Kapitsa, E. Ivanova, T. Voronina, et al. // European Journal of Pharmacology. – 2017. – V. 815. – P. 351–363.

525. Vale, T.G. Central effects of citral, myrcene and limonene, constituents of essential oil chemotypes from *Lippia alba* (Mill.). / E.C. Furtado, Jr., J.G. Santos, G.S.B. Viana. // Phytomedicine. – 2002. – V. 9 (8). – P. 709–714.

526. Vanderah, T.W. Delta and kappa opioid receptors as suitable drug targets for pain. // Clin. J. Pain. – 2010. – V. 26. – P. 10–15.

527. Vandevoorde, S. Lack of selectivity of URB602 for 2-oleoylglycerol compared to anandamide hydrolysis in vitro. / K.O. Jonsson, G. Labar, E. Persson et al. // Br. J. Pharmacol. – 2007. – V. 150. – P. 186–191.

528. Vauzour, D. The neurotoxicity of 5-S-cysteinyl-dopamine is mediated by the early activation of ERK1/2 followed by the subsequent activation of ASK1/JNK1/2 pro-apoptotic signaling / D. Vauzour, J.T. Pinto, A.J. Cooper et al. // Biochem. J. – 2014. – V. 463(1). – P. 41–52.

529. Vitalini, S. Traditional uses of medicinal plants in Valvestino (Italy). / F. Tome, G. J. Fico. // *Ethnopharmacol.* – 2009. – V. 121 (1). – P. 106-116.
530. Vogh-Eisele, A.K. Monoterpenoid agonist of TRPV3. / K. Weber, M.A. Sherkheli, G. Vielhaber. // *Br. J. Pharm.* - 2007. - V. 151. - P. 530-540.
531. Vyvey, M. Steroids as pain relief adjuvants. // *Can. Fam. Physician.* – 2010. – V. 56. – P. 1295-1297.
532. Wang, Y.H. The role of kappa-opioid receptor activation in mediating antinociception and addiction. / J.F. Sun, Y.M. Tao, Z.Q. Chi, et al. // *Acta. Pharmacol. Sin.* – 2010. – V. 31. – P. 1065-1070.
533. Walker, J.M. Pain modulation by release of the endogenous cannabinoid anandamide. / S.M. Huang, N.M. Strangman, K. Tsou, et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1999. - V.96. – P. 12198–12203.
534. Walker, J.M. Cannabinoid mechanisms of pain suppression. / A.G. Hohmann. // *Handb. Exp. Pharmacol.* – 2005. – V. 198. – P. 509–554.
535. Walsh, R. N. The open-field test: a critical review. / R. A. Cummins. // *Psychol. Bull.* – 1976. – V. 83. – P. 482.
536. Wang, L. Borneol alleviates brain injury in sepsis mice by blocking neuronal effect of endotoxin. / Q. Liang, A. Lin, Y. Wu et al. // *Life Science.* - 2019. - V. 232. - P. 116647.
537. Wang, X. Therapeutic strategies for Parkinson's disease: the ancient meets the future - traditional chinese herbal medicine, electroacupuncture, gene therapy and stem cells. / X.B. Liang, F.Q. Li, H.F. Zhou. // *Neurochem. Res.* - 2008. - V. 33. - P. 1956-1963.
538. Watt, E.E. Menthol shares general anesthetic activity and sites of action on the GABAA receptor with the intravenous agent, propofol. / B.A. Betts, F.O. Kotey, D.J. Humbert, et al. // *European Journal of Pharmacology.* – 2008. – V. 590. – P. 120-126.
539. Wiseman D.A., Werner S.A., Crowell P.L. Cell cycle arrest by the isoprenoids perillyl alcohol, geraniol and farnesol is mediated by p21^{cip1} and p27^{kip1}

in human pancreatic adenocarcinoma cells // J. Pharm. Experim. Ther. – 2007. – V. 320 (3). – P. 1163-1170.

540. Weintraub, D. Neuropsychiatric symptoms and cognitive abilities over the initial quinquennium of Parkinson disease. // C. Caspel-Garsia, T. Simuni, H. R. Cho et al. // Ann. Clin. Transl. Neurol. - 2020. - V. 7(4). - P. 449-461.

541. Whistler, J.L. Examining the role of mu opioid receptor endocytosis in the beneficial and side-effects of prolonged opioid use: From a symposium on new concepts in mu-opioid pharmacology. // Drug Alcohol Depend. - 2012. - V. 121(3). - P. 189-204.

542. Wilkerson, J.L. The endocannabinoid hydrolysis inhibitor SA-57 Intrinsic antinociceptive effects, augmented morphine-induced antinociception, and attenuated heroin seeking behavior in mice. / S. Ghosh, M. Mustafa, R.A. Abdullah et al. // Neuropharmacology. – 2017. – V. 114. – P. 156-167.

543. Wilson, A.W. The FAAH inhibitor URB597 reverses inflammatory pain through a CB1 receptor mediated mechanism. / N.M. Clayton, S.J. Medhurst, C. Bountra et al. // British Pharmacological Society Winter Meeting. – Newcastle. – 2005.

544. Woitalla, D. A non interventional study evaluating the effectiveness of rotigotine and levodopa combination therapy in younger versus older patients with Parkinson's disease / D. Woitalla, A. Dunac, A. Safavi et al. // Expert Opin.Pharmacother. – 2018. – V. 19(9). – P. 937–945.

545. Wolf, E. Long-term antidyskinetic efficacy of amantadine in Parkinson's disease / E. Wolf, K. Seppi, R. Katzenschlager et al. // Mov.Disord. – 2010. – V. 25(10). – P. 1357–1363.

546. Wong, C. Pain management in children: Part 1 — Pain assessment tools and a brief review of nonpharmacological and pharmacological treatment options. / E. Lau, L. Palozzi, F. Campbell. // Can. Pharm. J. – 2012. – V. 145 (5). – P. 222-225.

547. Woodhams, S.G. Spinal administration of the monoacylglycerol lipase inhibitor JZL184 produces robust inhibitory effects on nociceptive processing and the development of central sensitization in the rat. / A. Wong, D.A. Barrett, A.J. Bennett et al. // Br. J. Pharmacol. – 2012. – V. 167. – P. 1609–1619.

548. Woodhams, S. G. The Cannabinoid System and Pain. / V. Chapman, D. Finn, A. G. Hohmann et al. // Neuropharmacology. – 2017. – V. 124. – P. 105–120.

549. Woolfe, G. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol). / A.L. MacDonald. // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1944. – V. 80. – P. 300–307.

550. Yan, J.J. Protection against beta-amyloid peptide toxicity in vivo with long-term administration of ferulic acid. / J.Y. Cho, H.S. Kim, K.L. Kim, et al. // Br. J. Pharmacol.- 2001. – V. 133 (1). – P. 89-96.

551. Yang, J.Y. Administration of four different doses of gabapentin reduces awakening from breakthrough pain and adverse effects in outpatients with neuropathic pain during the initial titration. / W.I. Lee, W.K. Shin, C.H. Kim et al // Korean J. Anesthesiol. – 2013. – V. 65. – P. 48-54.

552. Yu, H. Carvacrol, a food-additive, provides neuroprotection on focal cerebral ischemia/reperfusion injury in mice. / Z.L. Zhang, J. Chen, A. Pei. // PLoS One. – 2012. – V. 7 (3). – P. e33584.

553. Yu, X.X. Dopamine agonist withdrawal syndrome: a comprehensive review / Yu X.X., Fernandez H.H. // J. Neurol. Sci. – 2017. – V. 374. – P. 53–55.

554. Zamayad, M. The anticonvulsant effects of *Ducrosia anethifoli* (Boiss) essential oil are produced by its main component alpha-pinene in rats. / M. Abbasnejad, S. Esmaeili-Mahani, A. Mostafavi et al. // Arq. Neuro-Psiquiart. - 2019. - V. 77. - P. 106-114.

555. Zhang, J. Induction of CB2 receptor expression in the rat spinal cord of neuropathic but not inflammatory chronic pain models. / C. Hoffert, H.K. Vu, T. Groblewski, et al. // Eur J Neurosci. – 2003. – V.17. – P. 2750–2754.

556. Zhang, X.B. A-Type GABA receptor as a central target of TRPM8 agonist menthol. / P. Jiang, N. Gong, X.L. Hu, et al. // PLoS One. – 2008. – V. 3 (10). – P. e3386.
557. Zang, X.Z. Synergistic inhibitory effect of berberine and d-limonene on human gastric carcinoma cell line MGC803. / L. Wang, D.W. Lui, G.Y. Tang et al. // J. of Medical Food. - 2014. - V. 17(9). - P. 955-962.
558. Zhao, Z. Ferulic acid is quickly absorbed from rat stomach as the free form and then conjugated mainly in liver. / Y. Egashira, H. Sanada. // J. Nutr. – 2004. – V. 134 (11). – P. 3083-3088.
559. Zhao, D. Variation of essential oil of *Mentha haplocalyx* Briq. and *Mentha spicata* L. from China. / Y.W. Xua, G.L. Yanga, A.M. Husainib, et al. // Industrial Crops and Products. – 2013. – V. 42. – P. 251-260.
560. Zhuo, M., Neuronal and microglial mechanisms of neuropathic pain. / G. Wu, L.J. Wu. // Molecular Brain. – 2011. – V.4. – P. 1-12.
561. Zuker, C.S. Neurobiology: a cool ion channel. // Nature. – 2002. – V. 416. – P. 27-28.