

УДК 616.831-004:615.212.3-092.9

О. О. Нефьодов, В. Й. Мамчур

ЗМІНИ АНТИНОЦИЦЕПТИВНОГО ПОТЕНЦІАЛУ КОМБІНАЦІЙ АНАЛГЕТИКІВ З МЕТИЛПРЕДНІЗОЛОНОМ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО РОЗСІЯНОГО СКЛЕРОЗУ

У роботі наведено теоретичне й експериментальне обґрунтування знеболювальної активності нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ): диклофенаку натрію, цефекоксибу, лорноксикаму і мелоксикаму — в умовах експериментального алергічного енцефаломієліту на фоні терапії метилпреднізолоном. Установлено, що в інтактних тварин усі комбінації метилпреднізолону і НПЗЗ здатні впливати на формування центрального компонента ноцицептивної відповіді на моделі електрошкірного подразнення кореня хвоста. Однак в умовах експериментального еквівалента розсіяного склерозу найбільший знеболювальний потенціал проявили мелоксикам (+186 % ($p \leq 0,05$)) і лорноксикам (+174 % ($p \leq 0,05$)) на рівні центральних механізмів больової перцепції при електроподразненні хвоста щурів на фоні базової терапії метилпреднізолоном.

Ключові слова: метилпреднізолон, експериментальний розсіяний склероз, нестероїдні протизапальні засоби.

UDC 616.831-004:615.212.3-092.9

O. O. Nefyodov, V. Y. Mamchur

CHANGES OF ANTINOCICEPTIVE POTENTIAL COMBINATIONS OF ANALGESICS WITH METHYLPREDNISOLONE IN EXPERIMENTAL MULTIPLE SCLEROSIS

We give a theoretical and experimental study of the analgesic activity of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) (diclofenac sodium, celecoxib and meloxicam lornoxicam) in experimental allergic encephalomyelitis equivalent during therapy with methylprednisolone. It was established that in intact animals all combinations of methylprednisolone and NSAIDs can influence the formation of the central component of the nociceptive response model electrocutaneous irritation root of the tail. However, in experimental allergic encephalomyelitis equivalent, the greatest potential anesthetic was showed by meloxicam (+186% ($p \leq 0.05$)) and lornoxicam (+174% ($p \leq 0.05$)) at the level of the central mechanisms of pain perception during electrostimulation of rat tail against the background of basic therapy with methylprednisolone.

Key words: methylprednisolone, experimental multiple sclerosis, non-steroidal anti-inflammatory drugs.

УДК 547.891.2:615.212+262.1

В. І. Павловський, канд. хім. наук,

Т. А. Кабанова, канд. біол. наук,

О. І. Халімова,

Є. В. Вороненко,

С. А. Андронаті, д-р хім. наук, проф.

АНАЛГЕТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ 1-АЛКІЛ-3-АЦЕТОКСИ-1,2-ДИГІДРО- 3Н-1,4-БЕНЗДІАЗЕПІН-2-ОНІВ

Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України, Одеса

Знеболання — одна з найважливіших задач у роботі лікаря, оскільки біль є основною причиною страждань, що спонукає пацієнта звертатися до медичних закладів. Тривога, депресія, безсоння і втрата дієздатності, які супроводжують больові синдроми, завдають шкоди суспільству загалом. Біль виконує захисну функцію, якщо сприйняття відповідає інтенсивності стимулу. Проте в умовах запалення або порушення іннервації поріг больової чутливості знижується, і відносно невинний стимул може сприйматися як дуже болісний, що має назву гіпералгезія.

Сьогодні не існує аналгетика, який оптимально відповідав би потребам клініки. Наркотичні (опіюїдні) аналгетики, не-

зважаючи на їх високу ефективність, застосовуються обмежено через здатність викликати фізичну і психічну залежність. Аналгетики-антипіретики і нестероїдні протизапальні лікарські засоби (НПЛЗ) використовуються при окремих видах болю (головний, суглобний, зубний тощо). Їх застосування нерідко супроводжується низкою побічних ефектів (ульцерогенна дія, гепатотоксичність, нефротоксичність, гематотоксичність та ін.) [1; 2].

Експериментальні дані демонструють здатність деяких похідних бенздіазепінового ряду, а саме селективних за підтипами бенздіазепінів, діючих лише на α_2/α_3 субодиниці бенздіазепінових (ГАМК_A) рецепторів, проявляти чітку антигіпер-

алгезивну активність щодо запального та нейропатичного болю в моделях на тваринах [3].

Бенздіазепіновий каркас, що успішно імітує бета-вігін на С-кінці брадикініну, одного з найбільш сильних природних стимуляторів болю, також знайшов застосування в дизайні антагоністів як B_1 , так і B_2 брадикінінових рецепторів [4]. Останніми роками представники компаній Merk і Elan Pharmaceuticals запатентували антагоністи B_1 брадикінінових рецепторів на основі 3-заміщених бенздіазепінів, які мають високий афінітет, фізіологічну активність *in vivo* і пероральну доступність [5].

Таким чином, пошук сполук з аналгетичними властивостями серед нових 3-заміщених

бенздіазепінів дозволить одержати важливу інформацію для створення перспективних аналгетиків нового покоління.

Метою даної роботи стало вивчення аналгетичних властивостей раніше синтезованих 1-алкіл-3-ацетокси-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бенздіазепін-2-онів, враховуючи наявність у науковій літературі даних, що декотрі 3-заміщені 1,2-дигідро-3*H*-1,4-бенздіазепіни проявляють значну аналгетичну активність [3–5].

Матеріали та методи дослідження

Експерименти проводили на 250 нелінійних білих мишах-самцях масою 20–25 г з віварію Одеського медичного університету. Тварин утримували в звичайних умовах віварію на стандартному харчовому раціоні при природному світловому циклі й одержували їжу та питво *ad libitum*.

Усі експериментальні дослідження здійснювали відповідно до методик, рекомендованих Комітетом з біоетики Державного експертного центру МОЗ України, та вимог Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою.

Показники ED₅₀ розраховували за методом В. Б. Прозоровського [6].

Зважаючи на наявність у науковій літературі даних, що 3-заміщені 1,2-дигідро-3*H*-1,4-бенздіазепіни проявляють значну аналгетичну активність [7; 8], з метою пошуку нових аналгетиків у відділі медичної хімії Фізико-хімічного інституту ім. О. В. Богатського НАН України здійснено синтез 1-алкіл-3-ацетокси-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бенздіазепін-2-онів **3–10** [9], отриманих за такою схемою (рис. 1).

1. *Вплив на больову реакцію, що викликається хімічним подразненням. Метод «оцтових корчів».* «Корчі» у мишей викликали 0,75% водним розчином оцтової кислоти, який вводили внутрішньоочередово (в/о) через 40 хв після в/о введення досліджуваних сполук [10].

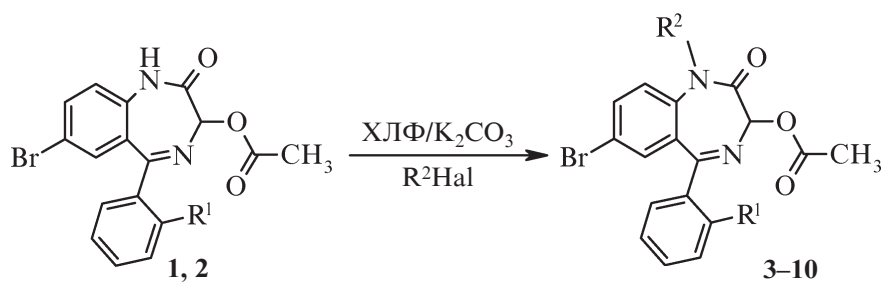


Рис. 1. Схема отримання сполук **3–10**

Контрольна група мишей в/о одержувала еквівалентну кількість фізіологічного розчину в емульсії з Твін-80. За реакцією мишей на введення оцтової кислоти спостерігали протягом 20 хв після введення подразника. Згідно з отриманими даними, розраховували показники ED₅₀ з аналгетичної активності.

2. *Формаліновий тест.* Формаліновий тест проводили на мишах. Досліджена сполука **4** дозою 1 мг/кг і препарат порівняння диклофенак натрію (Дарниця, Україна) дозою 10 мг/кг вводили в/о за 40 хв перед індуцією запалення. Контрольна група мишей в/о одержувала еквівалентну кількість фізіологічного розчину в емульсії з Твін-80.

Утворення набряку провокували інплантарною ін'єкцією 3% водного розчину формаліну об'ємом 0,01 мл за допомогою мікрошприца (20 мкл) із голкою 0,3 г у праву задню кінцівку тварин дослідних і контрольної груп.

За піддослідною твариною спостерігали протягом 40 хв, фіксуючи час, витрачений нею на лизання набряклої кінцівки. Здатність досліджуваних сполук впливати на больову поведінку піддослідних тварин у першій (больовій) фазі (перші 5 хв) і другій (запальній) фазі (з 15 до 40 хв) визначали за зменшенням часу облизування набряклої кінцівки [11].

3. *Гостру токсичність вивчали за методом Літчфілда і Уїлкоксона в дослідгах на мишах.* Гостру токсичність досліджених речовин вивчали на безпородних білих мишах при введенні сполук в/о при постійній температурі навколишнього середовища (20–21 °С). Оцінку результатів проводили через

24 год після введення речовин. Розраховували відсотки померлих тварин із 10 в кожній групі [10].

4. *Статистична обробка.* Статистична обробка експериментальних даних включала розрахунки середніх арифметичних значень (M), їх похибок ($\pm m$). Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента (t).

Результати дослідження та їх обговорення

Досліджені сполуки **3–10** проявили високу аналгетичну активність у дослідгах *in vivo* на моделі «корчів», викликаних введенням оцтової кислоти, у мишей, яка значно перевищувала ефект препарату порівняння диклофенаку натрію (експериментально знайдене значення ED₅₀ дорівнює (10,0 \pm 1,8) мг/кг). Діапазон значень ED₅₀ вивчених сполук становив від 0,058 мг/кг до 1,500 мг/кг (табл. 1).

Таблиця 1

Аналгетична активність 1-алкіл-3-ацетокси-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бенздіазепін-2-онів за методом «корчів», викликаних введенням оцтової кислоти, у дослідгах *in vivo* на мишах

Сполука	ED ₅₀ , мг/кг
3	0,200 \pm 0,050
4	0,060 \pm 0,019
5	0,058 \pm 0,018
6	0,200 \pm 0,050
7	0,530 \pm 0,160
8	0,180 \pm 0,050
9	0,110 \pm 0,033
10	1,510 \pm 0,390
Диклофенак натрію	10,000 \pm 1,800

Для 3-ацетоксипохідних **3–10** виявлено певну залежність аналгетичної активності від довжини алкільного замісника у першому положенні бенздіазепінового гетероциклу (рис. 2).

Найвищі показники з аналгетичної активності продемонстрували аналоги **4** та **5** з етильним і пропільним замісниками у першому положенні бенздіазепінового ядра відповідно. Збільшення довжини замісника до бутильного у випадку сполуки **6** призвело до падіння активності.

Для групи сполук **7–10**, яка відрізняється від попередньої наявністю атома хлору в фенільному кільці, розташованому у п'ятому положенні бенздіазепінового ядра, спостерігається аналогічна картина (див. рис. 2). Тобто подовження алкільного замісника у першому положенні бенздіазепінового ядра спочатку приводить до зростання показників аналгетичної активності, проте подальше нарощування довжини цього замісника призводить до аналога зі зменшеними аналгетичними властивостями.

Найкращі показники ED_{50} з аналгетичної активності серед усіх досліджених 1-алкіл-3-ацетокси-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бенздіазепін-2-онів за методом «корчів», викликаних введенням оцтової кислоти, у досліді *in vivo* на мишах належать сполуці **4** (0,060 мг/кг) з етильним замісником у першому положенні й аналогу **5** (0,058 мг/кг) із пропільним замісником у першому положенні, обидві сполуки мають фенільний замісник у п'ятому положенні бенздіазепінового ядра.

За результатами даних вищеописаного тестування вибрано сполуку **4**, одну з найбільш активних, для якої проведено додаткове дослідження у формаліновому тесті на мишах для виявлення аналгетичної дії досліджуваної речовини на больову поведінку тварин у першій (больовій) і другій (запальній) фазах тесту.

На рис. 3 наведено графіки, які характеризують розвиток у часі больової реакції тварин у

$1/ED_{50}$, мг/кг

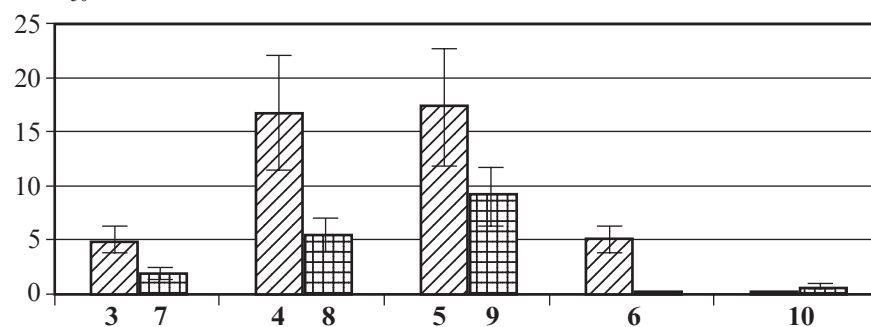


Рис. 2. Вплив довжини алкільного замісника для 3-ацетоксипохідних (**3–10**) на показник аналгетичної активності у тесті «корчів», індукованою оцтовою кислотою, у досліді *in vivo* на мишах

Час лизання лапи, с

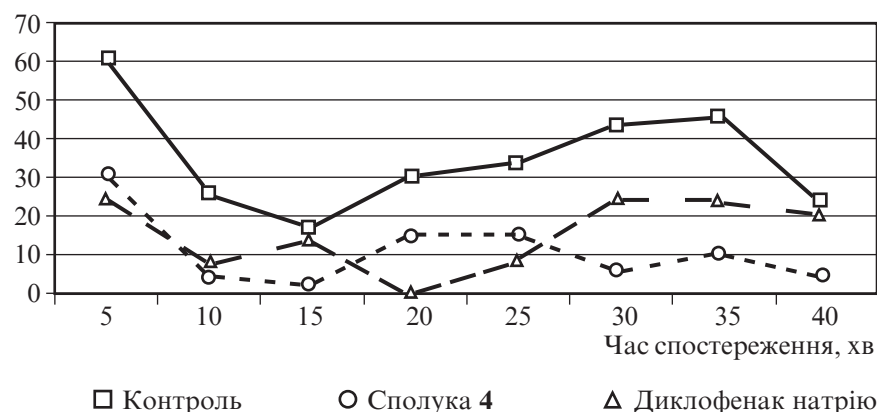


Рис. 3. Зниження больової реакції мишей під дією сполуки **4** дозою 1 мг/кг і диклофенаку натрію дозою 10,0 мг/кг у формаліновому тесті порівняно з контролем

формаліновому тесті та вплив сполуки **4** дозою 1 мг/кг й еталонного препарату диклофенаку натрію дозою 10,0 мг/кг на больову поведінку тварин у досліді *in vivo* на мишах.

З графіків розвитку больової реакції у тварин зі збігом часу можна відзначити, що аналгетична дія сполуки **4** дозою 1 мг/кг у першій (больовій) фазі є на рівні знеболювальної активності диклофенаку натрію, уведеного дозою 10 мг/кг.

У другій фазі наведена сполука демонструє аналгетичні властивості, помітно перевищуючи активність сполуки порівняння (див. рис. 3). Це можна пояснити залученням можливих протизапальних і антигіпералгезивних властивостей сполуки **4**, тому що друга (запальна) фаза формалінового тесту відбувається на тлі поступового вивільнення чинників

запалення, таких як кініни, простагландини, лейкотрієни тощо, чия наявність приводить до розвитку, по суті, первинної гіпералгезії.

Оцінка гострої токсичності предстваників 1-алкіл-3-ацетокси-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бенздіазепін-2-онів на мишах показала, що сполуки цього ряду мають показники LD_{50} , що перевищують 1000 мг/кг, тому їх можна вважати малотоксичними.

Одержані нами експериментальні дані свідчать про перспективність пошуку речовин з аналгетичними властивостями серед 1-алкіл-3-ацетокси-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бенздіазепін-2-онів з метою створення вискоєфективних знеболювальних засобів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Nicholson B. Responsible prescribing of opioids for the management of chronic pain / B. Nicholson // *Drugs*. – 2003. – Vol. 63 (1). – P. 17–32.

2. *Игнатов Ю. Д.* Современные аспекты терапии боли: опыты / Ю. Д. Игнатов, А. А. Зайцев // Качественная клиническая практика. – 2001. – № 2. – С. 2–13.

3. *Zeilhofer H. U.* GABAergic analgesia: new insights from mutant mice and subtype-selective agonists / H. U. Zeilhofer, H. Mohler, A. Di Lio // Trends. Pharmacol. Sci. – 2012. – Vol. 30. – P. 397–402.

4. *The design of non-peptide human bradykinin B2 receptor antagonists employing the benzodiazepine peptidomimetic scaffold* / E. K. Dziadulewicz, M. C. Brown, A. R. Dunstan [et al.] // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 1999. – Vol. 9. – P. 463–468.

5. *Benzodiazepines as Potent and Selective Bradykinin B1 Antagonists* / M. R. Wood, J. J. Kim, W. Han [et al.]

// J. Med. Chem. – 2003. – Vol. 46, N 10. – P. 1803–1806.

6. *Прозоровский В. Б.* Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / В. Б. Прозоровский // Психофармакология и биологическая наркологи́я. – 2007. – Т. 7, № 3/4. – С. 2090–2120.

7. *In vivo evaluation of substituted 3-amino-1,4-benzodiazepines as antidepressant, anxiolytic and anti-nociceptive agents* / E. Lattmann, P. Lattmann, Y. Boonprakob [et al.] // Arzneimittelforschung. – 2009. – Vol. 59, N 2. – P. 61–71.

8. *Синтез, анальгетическая и противовоспалительная активность новых производных бензодиазепина* / Н. Наджафа, М. Пирали, Р. Даулатбади [и др.] // Химико-фармакологический журнал. – 2005. – Т. 30, № 12. – С. 21–23.

9. *Пат.* 107433, МПК С07D 243/14, 243/24, 31/5513 1-алкіл-3-ацетокси-1,2-дигідро-3H-1,4-бенздіазепін-2-оні як анальгетичні засоби / Павловський В. І., Андронаті С. А., Кабанова Т. А., Халімова О. І., Вороненко Є. В.; заявник та патентовласник Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України. – № а201315525; заявл. 30.12.2013; опубл. 25.12.2014, Бюл. № 24.

10. *Гацура В. В.* Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В. В. Гацура. – М.: Медицина, 1974. – С. 130.

11. *The formalin test: an evaluation of the method* / A. Tjolsen, O.-G. Berge, S. Hunskaar [et al.] // Pain. – 1992. – Vol. 51. – P. 5–17.

УДК 547.891.2:615.212+262.1

В. І. Павловський, Т. А. Кабанова, О. І. Халімова, Є. В. Вороненко С. А. Андронаті
АНАЛЬГЕТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ 1-АЛКІЛ-3-АЦЕТОКСИ-1,2-ДИГІДРО-3H-1,4-БЕНЗДІАЗЕПІН-2-ОНІВ

Метою даної роботи є вивчення анальгетичних властивостей раніше синтезованих 1-алкіл-3-ацетокси-1,2-дигідро-3H-1,4-бенздіазепін-2-онів.

Анальгетичну активність досліджували *in vivo* на мишах за методом «корчів», викликаних внутрішньоочеревинно введенням оцтової кислоти, і за допомогою формалінового тесту. Як препарат порівняння використовували диклофенак натрію.

Виявлено високу анальгетичну активність нових сполук ряду 1-алкіл-3-ацетокси-1,2-дигідро-3H-1,4-бенздіазепін-2-онів, показники ED₅₀ з анальгетичної активності перебувають у діапазоні від 0,058 мг/кг до 1,500 мг/кг, при цьому всі тестовані сполуки перевищували за анальгетичною активністю препарат порівняння диклофенак натрію.

Одержані дані свідчать про перспективність сполук вивченого ряду з метою пошуку та створення нових ефективних анальгетичних і протизапальних засобів.

Ключові слова: 1-алкіл-3-ацетокси-1,2-дигідро-3H-1,4-бенздіазепін-2-оні, анальгезія, формаліновий тест.

UDC 547.891.2:615.212+262.1

V. I. Pavlovsky, T. A. Kabanova, O. I. Khalimova, Ye. V. Voronenko, S. A. Andronati
ANALGESIC PROPERTIES OF 1-ALKYL-3-ACETOXY-1,2-DIHYDRO-3H-1,4-BENZODIAZEPINE-2-ONES

The aim of given work is to study the analgesic properties of previously synthesized 1-alkyl-3-acetoxy-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepine-2-ones.

Analgesic activity was studied *in vivo* in mice on a model of “writhing” caused by intraperitoneal injection of acetic acid solution and in formalin test. The diclofenac sodium was used as the standard preparation.

There was found a high analgesic activity for the novel compounds of 1-alkyl-3-acetoxy-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepine-2-ones series, ED₅₀ indices for analgesic activity are in the dose range from 0.058 to 1.500 mg/kg, all tested compounds by analgesic activity values exceeded the reference preparation, diclofenac sodium.

The obtained data indicate the prospects of a series of the compounds studied in terms of finding and creating new effective analgesic and anti-inflammatory agents.

Key words: 1-alkyl-3-acetoxy-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepine-2-ones, analgesia, formalin test.

UDC 616.341-002.1-092.9:618.36-001.18-089.843

K. V. Shepitko, PhD, Associate Professor

MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF RAT SMALL INTESTINE MUCOSA AFTER SINGLE ADMINISTRATION OF CRYOPRESERVED PLACENTA IN EXPERIMENTAL ACUTE ASEPTIC PERITONEAL INFLAMMATION

HSEEU “Ukrainian Medical Stomatological Academy”, Poltava

Despite the advances of modern surgery, peritonitis remains a topical problem [1; 2]. This is due to the high risk of multiple organ failure. Currently, there are a lot

of studies of peritoneum microcirculation morphological characteristics and parenchymatous organs (liver, kidney, heart) morphological characteristics in acute diffuse

peritonitis [3–5], study of adhesions characteristics after suffering peritoneum inflammation [6]. However, not well studied morphological changes of the intesti-