

Е.Ю. Бибик¹, И.С. Олейник¹, С.Г. Кривоколыско^{1,2},
К.А. Фролов^{1,2}, В.В. Доценко³, А.С. Саул⁴

АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИАНОТИОАЦЕТАМИДА В ТЕСТЕ ГОРЯЧЕЙ ПЛАСТИНЫ

¹ГУ «Луганский государственный медицинский университет им.Святителя Луки», ЛНР;

²ОУ ВО «Луганский государственный университет им. В. Даля», ЛНР;

³ФГБ ОУ ВО «Кубанский государственный университет», Россия

⁴ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького», ДНР

Резюме. Изучены вопросы наличия анальгетической активности в спектре фармакодинамических эффектов новых производных цианотиоацетамида. Синтезированные нами на базе НИЛ «Химэкс» ЛГУ им. Владимира Даля» 250 новых производных 1,4-дигидропиридинов были подвергнуты виртуальному биоскринингу с использованием комплекса программного обеспечения Swiss Target Prediction. Проведены скрининговые исследования *in vivo* на белых крысах 8 образцов производных 1,4-дигидропиридинов в классическом тесте горячей пластины в сравнении с препаратом референтом – метамизолом натрия (анальгином). Соединения вводили внутривенно в дозе 5 мг/кг за 1,5 часа до помещения крыс на горячую пластину. Максимально выраженной анальгетической активностью обладают соединения с лабораторным шифрами d02-149 (6-[(2-anilino-2-oxoethyl)thio]-5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide); d02-139 (5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-6-({2-[(4-methoxyphenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide); d02-168 (5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-6-({2-[(4-fluorophenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide), которые превосходят анальгин в 1,5-2,45 раза.

Ключевые слова: производные цианотиоацетамида, тест горячей пластины, анальгетическая активность.

Актуальность. Большое количество нестероидных противовоспалительных средств существенно расширяет возможности лечения разнообразных воспалительных заболеваний [1,2].

Широкое применение объясняется универсальным спектром действия этих препаратов. Они оказывают противовоспалительное, анальгезирующее и жаропонижающее действие и приносят облегчение больным с соответствующими симптомами, которые сопровождают различные заболевания [3-5]. Однако до сих пор выбор эффективного и безопасного препарата остаётся сложным, что обусловлено, прежде всего наличием неблагоприятных эффектов и противопоказаний к применению препаратов данной группы [3,6].

Боль - наиболее тягостное ощущение, которое во многом определяет тяжесть страданий и нарушение социальной адаптации пациента [1]. Именно поэтому с точки зрения больного скорость и стойкость обезболивания относятся к основным критериям оценки качества лечения [3].

Исходя из этого, в настоящее время следует обращать особое внимание на синтез новых болеутоляющих препаратов и их скорейшие доклинические и клинические испытания.

Установлено, что перспективным классом гетероциклических соединений являются производные цианотиоацетамида [7,8]. Спектр наиболее изученных и важных для клинической практики свойств их производных обширен и включает высокую активность в отношении вирусов клещевого энцефалита и Повассан, противовоспалительную, болеутоляющую активность, адаптогенное воздействие, что описано в ранее опубликованных наших работах.

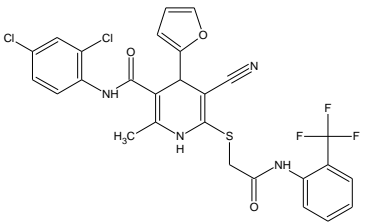
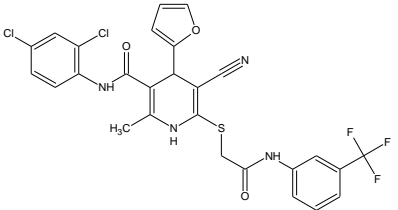
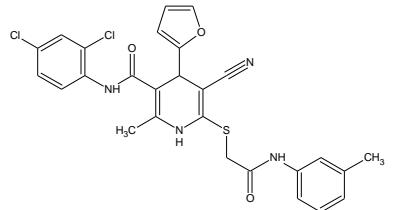
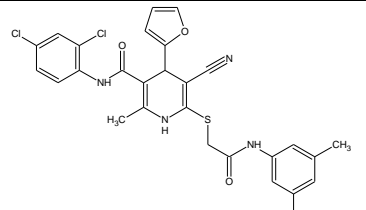
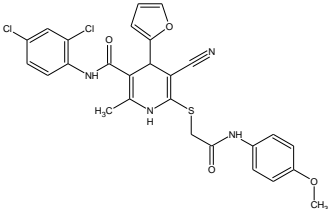
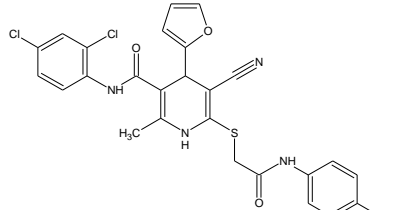
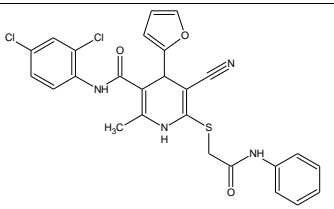
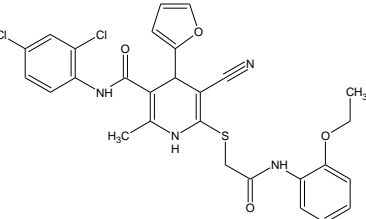
Материал и методы исследования. Эксперимент реализован на 100 белых беспородных крысах-самцах массой 225-250 г, полученных из вивария ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки» в осенне-зимний период в лаборатории кафедры фундаментальной и клинической фармакологии. Экспериментальные группы формировали методом случайного отбора по 10 особей в каждой. Крысы были распределены на контрольную (без фармакокоррекции), референтную (группа сравнения, которой вводили «Анальгин») и 8 опытных групп. Работа выполнена в строгом соответствии с международными нормами и правилами гуманного обращения с животными.

Определение анальгетической активности проводилось в тесте горячей пластины, основанном на поведенческих реакциях, контролируемых супраспинальными структурами, в ответ на болевое раздражение, согласно [8]. Животных помещали на разогретую в среднем до 52°C (50-55°C) металлическую пластину, окруженную цилиндром. Нами регистрировалось время с момента помещения на горячую поверхность до появления поведенческого ответа на ноцицептивную стимуляцию в виде прыжков, отдергиваний и облизываний задних лап. В качестве препарата сравнения для референтной группы крыс использован Анальгин «ОАО Фармстандарт» в дозе 7 мг/кг. Восемь образцов производных цианотиоацетамида вводили внутривенно в дозе 5 мг/кг за 1,5 часа до помещения крыс на горячую пластину.

Химические структуры производных цианотиоацетамида представлены в таблице 1.

Критерием анальгетического эффекта принято считать достоверное увеличение латентного периода реакции после введения вещества.

Таблица 1. – Химические структуры новых производных цианотиоацетамида.

Название образца	Химическая структура
<p>D02-122 5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-2-methyl-6-[(2-oxo-2-[[2-(trifluoromethyl)phenyl]amino]ethyl)thio]-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide</p>	
<p>D02-123 5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-2-methyl-6-[(2-oxo-2-[[3-(trifluoromethyl)phenyl]amino]ethyl)thio]-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide</p>	
<p>D02-133 5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-2-methyl-6-[(2-[(3-methylphenyl)amino]-2-oxoethyl)thio]-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide</p>	
<p>D02-128 5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-6-({2-[(3,5-dimethylphenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide</p>	
<p>D02-139 5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-6-({2-[(4-methoxyphenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide</p>	
<p>D02-168 5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-6-({2-[(4-fluorophenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide</p>	
<p>D02-149 6-[(2-anilino-2-oxoethyl)thio]-5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide</p>	
<p>D02-172 5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-6-({2-[(2-ethoxyphenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide</p>	

Статистическая обработка полученных результатов производилась по известным формулам и методам математической статистики, характеризующей количественную изменчивость. При обработке экспериментальных данных определялись: среднее арифметическое времени латентного периода до начала прыжков с поверхности горячей пластины \bar{x} ; дисперсия значений σ^2 вокруг среднего арифметического; среднее квадратическое отклонение σ ; коэффициент вариации V .

Полученные результаты и их обсуждение. Результаты исследований анальгетической активности в тесте горячей пластины представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты исследований анальгетической активности в тесте горячей пластины.

Группа животных	Среднее арифметическое	Дисперсия	Среднеквадр. отклонение	Коэффициент вариации
1. Контрольная	16,25	26,18	5,11	31,48
2. Сравнения (анальгин, 7мг/кг)	32,9	154,9	12,4	37,8
3. d02-128 (5 мг/кг)	15,2	17,16	4,19	27,60
4. d02-172 (5 мг/кг)	29,3	10,41	3,22	11,01
5. d02-122 (5 мг/кг)	44,7	454,61	21,32	47,69
6. d02-133 (5 мг/кг)	48,4	162,64	12,75	26,34
7. d02-123 (5 мг/кг)	49,4	277,64	16,66	33,72
8. d02-168 (5 мг/кг)	50,0	100,6	10,02	20,05
9. d02-149 (5 мг/кг)	59,7	82,41	9,07	15,20
10. d02-139(5 мг/кг)	80,7	201,01	14,18	17,57

Как видно из приведенных данных, время до начала подпрыгиваний с поверхности горячей пластины у крыс контрольной группы составило 16,25 секунды. Предварительное введение анальгина показывает увеличение латентного периода до возникновения ноцицептивного импульса на 79,78%, и составляет 32,9 секунды.

У животных семи опытных групп зарегистрировано увеличение времени до начала облизывания задних лап на поверхности разогретой металлической пластины, в сравнении с контрольной группой.

У животных шести опытных групп, зарегистрировано время, подтверждающее наличие антиноцицептивной активности, превышающей таковую у анальгина. Образец с лабораторным шифром d02-128 показал значения длительности латентного периода пребывания животных на горячей пластине, ниже таковым, зарегистрированным в контрольной и референтной группах - 15,2с.

Наиболее выраженной анальгетической активностью обладают производные с шифрами d02-149 и d02-139. Образец d02-139 увеличивает время до начала подпрыгиваний над поверхностью разогретой металлической пластины в сравнении с референтной группой почти в 2,45 раза, а d02-149 в 1,81 раза. Образец d02-168 способен в 1,51 раза увеличить время пребывания животных опытной группы на

поверхности разогретой металлической пластины в сравнении с референтной группой, а образцы d02-123 в 1,5 раза и d02-133 в 1,47 раза.

Анализируя полученные результаты у крыс опытной группы, получавших образец с шифром d02-122 и сравнивая их с данными, полученными нами у лабораторных животных референтной группы видно, что производный цианотиоацетамида с этим шифром превосходит по анальгетической активности анальгин в 1,35 раза, а образец d02-172 в 0,89 раза.

Основными потенциальными биологическими мишенями для анализируемых образцов по данным виртуального биоскрининга являются аденозиновые рецепторы, циклооксигеназа-2, каннабиодные рецепторы, коагуляционный фактор X, ангиотензиновые и простаноидные рецепторы.

Производные цианотиоацетамида с лабораторными шифрами d02-149 и d02-139 с высокой степенью вероятности будут воздействовать на аденозиновые, простаноидные, циклооксигеназу-2, коагуляционный фактор X. Кроме того, выявлена их потенциальная возможность влияния на СВ1-каннабиодные рецепторы, что увеличивает вероятность проявления анальгетической активности.

Соединение с лабораторным шифром d02-128 по результатам проведенного виртуального биоскрининга может воздействовать на аденозиновые рецепторы, простаноидные рецепторы, а также на каннабиодные рецепторы. Образец с шифром d02-122 потенциально способен воздействовать на циклооксигеназу-2, коагуляционный фактор X, а также на каннабиодные рецепторы. Образец с лабораторным шифром d02-133 с высокой степенью вероятности способен связываться с ангиотензиновыми рецепторами, каннабиодными и простаноидными рецепторами.

Производные цианотиоацетамида с лабораторными шифрами d02-172 и d02-168 будут воздействовать на каннабиодные, аденозиновые, простаноидные, циклооксигеназу-2, коагуляционный фактор X.

Соединение с лабораторным шифром d02-123 по результатам проведенного виртуального биоскрининга может воздействовать на каппа- и дельта-опиодные рецепторы, а также на коагуляционный фактор X, простаноидные, каннабиодные рецепторы.

Выводы. Проведенные *in vivo* скрининговые исследования для восьми новых производных цианотиоацетамида, обнаружили наличие максимально выраженной анальгетической активности в дозе 5 мг/кг у трех нижеприведенных соединений:

- d02-149 (6-[(2-anilino-2-oxoethyl)thio]-5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide), который эффективнее анальгина в 1,81 раза;

-d02-139 (5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-6-({2-[(4-methoxyphenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide), который активнее в плане анальгезии анальгина в 2,45 раза,

-d02-168 (5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-6-({2-[(4-fluorophenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide), который эффективнее препарата сравнения в 1,51 раза.

Умеренную анальгетическую активность, превышающую эффект от применения препарата-референта (анальгина), проявили образцы с шифрами:

-d02-123 (5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-2-methyl-6-[(2-oxo-2-{{3-(trifluoromethyl)phenyl}amino}ethyl)thio]-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide);

-d02-133 (5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-2-methyl-6-({2-[(3-methylphenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide);

-d02-122 (5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-2-methyl-6-[(2-oxo-2-{{2-(trifluoromethyl)phenyl}amino}ethyl)thio]-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide).

Литература.

1. Шопабаева, А.Р. Роль обезболивающих препаратов: на пути к преодолению боли / А.Р. Шопабаева, Э.А. Серикбаева, Э. Х. Латаева // Вестник КазНМУ. –2017. – № 4. – С.258-259.
2. The Expanding Role of Pyridine and Dihydropyridine Scaffolds in Drug Design / Y. Ling, Z.Y. Hao, D. Liang [et al.] // Drug Design, Development and Therapy. – 2021. – Vol. 15. – P. 4289-4338.
3. Колесников Ю.А. Перспективы использования комбинации локально вводимых нестероидных противовоспалительных средств и опиоидов в лечении боли периферического генеза. Вестник анестезиологии и реаниматологии. 2019;16(3):41-7.
4. Кривоколыско Д.С. Новые 4-(2-фурил)-1,4-дигидроникотинонитрилы и 1,4,5,6-тетрагидроникотинонитрилы: синтез, строение и анальгетическая активность / Д.С. Кривоколыско, В. В. Доценко, Е. Ю. Бибик [и др.] // Журнал общей химии. – 2021. – Т. 91, № 9. – С. 1359–1374. DOI: 10.31857/S0044460X21090079 (Krivokolysko, D.S. New 4-(2-Furyl)-1,4-dihydronicotinonitriles and 1,4,5,6-Tetrahydronicotinonitriles: Synthesis, Structure, and Analgesic Activity / D.S. Krivokolysko, V.V. Dotsenko, E.Yu. Bibik [et al.] // Russian Journal of General Chemistry. – 2021. - Vol. 91, No. 9. – P. 1646–1660. DOI: 10.1134/S1070363221090073).
5. Бибик Е.Ю. Изыскание в ряду новых производных серосодержащих ди- и тетрагидропиридинов потенциальных болеутоляющих средств / Е.Ю. Бибик, Л.И. Курбанов, С.А. Григорян [и др.] // Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова. – 2021. - Т. 19, № 1. – С. 17-20.
6. Stokes A. Trends in Prescription Analgesic Use Among Adults With Musculoskeletal Conditions in the United States, 1999-2016 / A. Stokes, K.M. Berry, K. Hempstead [et al.] // JAWA Network Open. – 2019. – Vol. 2, № 12. – P. 1-13.
7. Лесная О.А. Нестероидные противовоспалительные препараты: более 30 лет на пике актуальности / О. А. Лесная // Трудный пациент. – 2018. – Т. 16, № 11. – С. 45-49.
8. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К., 2012. [Mironov A.N. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennih sredstv Moscow: Grif i K, 2012.

Abstract.

E.Y. Bibik¹, I.S. Oleinik¹, S.G. Krivokolysko^{1,2}, K.A. Frolov^{1,2}, V.V. Dotsenko³, A.S. Saul⁴

**ANALGESIC ACTIVITY OF NEW CYANTHIOACETAMIDE
DERIVATIVES IN THE HOT PLATE TEST**

¹SI LPR "Lugansk State Medical University named St. Luke", Lugansk.

²SEI VO LPR "Lugansk State University named after Vladimir Dahl", Lugansk.

³FSBEI HPE "Kuban State University", Krasnodar, Russia.

⁴SEO HPE "Donetsk National Medical University named after M. Gorky", Donetsk

The issues of the presence of analgesic activity in the spectrum of pharmacodynamic effects of new cyanthioacetamide derivatives were studied. Synthesized by us on the basis of the research laboratory "Chemex" of Lugansk State University named Vladimir Dahl" 250 new derivatives of 1,4-dihydrothiopyridines were subjected to virtual bioscreening using the Swiss Target Prediction software package. Screening studies in vivo on white rats were carried out on 8 samples of 1,4-dihydropyridine derivatives in the classic hot plate test in comparison with the reference drug metamizole sodium (analgin). The compounds were administered intragastrically at a dose of 5 mg/kg 1.5 hours before placing the rats on the hot plate. Compounds with laboratory codes d02-149 (6-[(2-anilino-2-oxoethyl)thio]-5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide); d02-139 (5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-6-({2-[(4-methoxyphenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide); d02-168 (5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-6-({2-[(4-fluorophenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide), which are 1.5-2.45 times more effective than analgin.

Keywords: cyanthioacetamide, hot plate test, analgesic activity.

References.

1. Shopabaeva, A.R. The role of painkillers: on the way to overcoming pain/A.R. Shopabaeva, E.A. Serikbaev, E. Kh. Lataev//Bulletin of KazNMU. –2017. – № 4. - S.258-259.
2. The Expanding Role of Pyridine and Dihydropyridine Scaffolds in Drug Design / Y. Ling, Z.Y. Hao, D. Liang [et al.] // Drug Design, Development and Therapy. – 2021. – Vol. 15. – P. 4289-4338.
3. Kolesnikov Yu.A. Prospects of using a combination of locally administered nonsteroidal anti-inflammatory agents and opioids in the treatment of peripheral genesis pain. Bulletin of Anesthesiology and Resuscitation. 2019;16(3):41-7.
4. Krivokolysko D.S. New 4-(2-furyl)-1,4-dihydropyridinonitriles and 1,4,5,6-tetrahydropyridinonitriles: synthesis, structure and analgesic activity/D.S. Krivokolysko, V.V. Dotsenko, E. Yu. Bibik [et al.] //Journal of general chemistry. – 2021. – T. 91, No. 9. – Page 1359-1374. DOI: 10.31857/S0044460X21090079 (Krivokolysko, D.S. New 4-(2-Furyl)-1,4-dihydropyridinonitriles and 1,4,5,6-Tetrahydropyridinonitriles: Synthesis, Structure, and Analgesic Activity / D.S. Krivokolysko, V.V. Dotsenko, E.Yu. Bibik [et al.] // Russian Journal of General Chemistry. – 2021. - Vol. 91, No. 9. – P. 1646–1660. DOI: 10.1134/S1070363221090073).
5. Bibik E.Yu. Finding potential painkillers among the new derivatives of sulfur-containing di- and tetrahydropyridines/E.Yu. Bibik, L.I. Kurbanov, S.A. Grigoryan [and others] //Morphological almanac named after V.G. Koveshnikov. – 2021. - T. 19, NO. 1. - S. 17-20.
6. Stokes A. Trends in Prescription Analgesic Use Among Adults With Musculoskeletal Conditions in the United States, 1999-2016 / A. Stokes, K.M. Berry, K. Hempstead [et al.] // JAWA Network Open. – 2019. – Vol. 2, № 12. – P. 1-13.
7. Lesnaya O.A. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: more than 30 years at the peak of relevance/O. A. Lesnaya//Difficult patient. – 2018. – T. 16, № 11. - S. 45-49.
8. Mironov A.N. Guide to preclinical drug research. M.: Griff and K., 2012. [Mironov A.N. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv Moscow: Grif i K, 2012.

Сведения об авторах: Бибик Елена Юрьевна – д.м.н., профессор, зав. каф. фундаментальной и клинической фармакологии ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им.Святителя Луки», helen_bibik@mail.ru; Олейник Ирина Сергеевна – студентка ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки» irina.oleynik.1999@yandex.ua; Кривоколыско Сергей Геннадиевич – д.хим.н. профессор, ст.н.с. НИЛ «Химэкс» Луганского государственного университета им. В.Даля ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки» научный руководитель НИЛ «Химэкс», ksg-group-lugansk@mail.ru; Фролов Константин Александрович – к.хим.н. доцент НИЛ «Химэкс» Луганского государственного университета им. В. Даля, ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки» доц. каф.фармацевтической химии и фармакогнозии ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки», ka.frolov@inbox.ru; Доценко Виктор Викторович – д.хим.н. Кубанский государственный университет, НИЛ «Химэкс» Луганского государственного университета им. В. Даля профессор каф. органической химии и технологий ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет», victor_dotsenko@bigmir.net; Саул Антон Станиславович – преподаватель-стажер каф.оперативной хирургии и топографической анатомии ГОУ ВПО «Донецкий национальный медицинский университет им.М. Горького».