

УДК 615.212.07

## ИССЛЕДОВАНИЕ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ТИОДИАЗОНА

Казаишвили Ю. Г., Демидова М. А.

*ГБОУ ВПО «Тверская государственная медицинская академия Минздрава России, Тверь, Россия (170001, Тверь, ул. Советская, 4), e-mail: [ykaza@bk.ru](mailto:ykaza@bk.ru)*

В эксперименте на 40 белых мышах в тесте «горячая пластинка» было показано, что новые производные тиодиазона достоверно увеличивали время болевого рефлекса у мышей. Анальгетическая активность соединений ЛХТ 3–10 (50 мг/кг) и ЛХТ 10–10 (50 мг/кг), синтезированных во «Всероссийском научном центре безопасности биологически активных веществ» была сопоставима с эффектами диклофенака-натрия (50 мг/кг). Последние десятилетия отмечается значительный рост интереса к проблеме хронической боли и рассмотрение данного феномена с позиции самостоятельного патологического процесса. По определению Международной Ассоциации по изучению боли, боль – это неприятное ощущение и эмоциональное переживание, возникающее в связи с настоящей или потенциальной угрозой повреждения тканей.

Ключевые слова: тиодиазон, анальгетическая активность, «горячая пластина», болевой рефлекс.

## ESTIMATION OF ANALGETIC ACTIVITY OF NEW DERIVATIVES TIODIAZONE

Kazaishvili Y. G., Demidova M. A.

*Tver State Medical Academy, Tver, Russia (170001, Tver, Soviet st. 4), e-mail: [ykaza@bk.ru](mailto:ykaza@bk.ru)*

Experiments with 40 white mice in test “Hot Plate” have shown that new tiodiazone derivatives authentically increase time of painful reflex at mice. Analgetic effect of LHT 3–10 (50 mg/kg) and LHT 10–10 (50 mg/kg) which was syntetized in «The all-russia scientific center on safeti of biologically active substances», have been comparable with effects of diclofenac sodium. Recent decades have seen a significant increase in interest in the problem of chronic pain and the consideration of this phenomenon from the perspective of an independent disease process. According to the International Association for the Study of Pain [6], pain is an unpleasant sensation and emotional experience arising from a real or potential threat to tissue damage.

Keywords: tiodiazone, analgetic activity, “Hot plate”, painful reflex.

### Введение

Последние десятилетия отмечается значительный рост интереса к проблеме хронической боли и рассмотрение данного феномена с позиции самостоятельного патологического процесса. По определению Международной Ассоциации по изучению боли [6], боль – это неприятное ощущение и эмоциональное переживание, возникающее в связи с настоящей или потенциальной угрозой повреждения тканей.

Боль является сложным психофизиологическим феноменом, который выполняет защитную, адаптивную функцию, но при длительной стимуляции боль приобретает хроническое течение, оказывает дезадаптивное действие и приобретает патогенное значение для организма.

По статистическим данным служб здравоохранения и ведущих специалистов по проблеме боли многих развитых стран мира, хроническими болевыми синдромами страдают миллионы людей, которые изменяют их физическое и эмоциональное состояние, уменьшают

их качество жизни, снижают трудоспособность. Хроническая боль связана со значительными нарушениями уровня социально-трудовой адаптации. В большинстве случаев хронический болевой синдром сопровождается депрессией, вызывает отрицательные эмоциональные переживания, снижает качество жизни больного. По данным ВОЗ известно, болевые синдромы составляют одну из ведущих причин (от 11,3 до 40 %) обращений к врачу в системе первичной медицинской помощи [7, 8]. В структуре неврологического приема пациенты с хроническими болевыми синдромами (ХБС) составляют до 52,5 % [9].

Значительный вклад в развитие контроля над болью принадлежит анальгетическим и противовоспалительным средствам, однако, они не всегда являются достаточно эффективными, а многие из них и вовсе обладают неблагоприятным профилем безопасности. Поэтому перспективным направлением в области создания новых препаратов является поиск биологически активных веществ с противовоспалительной и анальгетической активностью.

В настоящее время в качестве анальгетических препаратов используют вещества с различной химической структурой и механизмом действия. В связи с тем, что при воспалении наряду со специфическими биохимическими изменениями происходят существенные метаболические сдвиги (в частности, наблюдается активация реакций свободнорадикального окисления на фоне понижения активности антиоксидантных систем) перспективным является исследование эффектов препаратов с антиоксидантной активностью при болях, связанных с воспалением. Наличие противовоспалительной и анальгетической активности отмечено у антиоксидантов различной химической структуры, в том числе серусодержащих веществ, производных 3-оксипиридина, сукцинатсодержащих соединений и других.

Одной из перспективных групп для поиска новых лекарственных веществ с обезболивающей и противовоспалительной активностью являются производные тиодиазона.

**Целью настоящего исследования** явилась оценка анальгетической активности новых производных тиодиазона на модели «горячая пластинка» у мышей.

**Материалы и методы исследования.** Оценка обезболивающей активности новых производных тиодиазона проводили методом «горячей пластинки» в эксперименте на мышах. Исследования проведены с использованием 40 белых неинbredных мышей обоего пола массой  $20 \pm 1$  г. Подопытных животных содержали в условиях вивария (с естественным режимом освещения; при температуре  $22-24$  °; относительной влажности воздуха  $40-50$  %) с использованием стандартной диеты (ГОСТ Р 50258-92). Эксперименты проводили в соответствии с правилами качественной лабораторной практики (GLP) при проведении доклинических исследований в РФ [1], а также правилами и Международными рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых

при экспериментальных исследованиях (1986) [2]. Перед постановкой эксперимента животные проходили карантин в течение 10–14 дней [3, 4].

Болевую реакцию у подопытных мышей индуцировали, помещая их на «горячую пластинку» с температурой 55 °С. При контакте подушечек лап животных с горячей поверхностью отмечались отдергивание лапок, другие проявления боли (подпрыгивания, писк). Для оценки выраженности болевого рефлекса измеряли время до момента отдергивания лапок от «горячей пластины». Оценку анальгетической активности исследуемых соединений в тесте «горячая пластинка» у мышей проводили после внутрибрюшинного введения через каждые 30 минут в течение двух часов.

Оценивали обезболивающую активность двух новых производных тиодиазона с лабораторными шифрами ЛХТ 3-10 и ЛХТ 10-10, синтезированных в ОАО «Всероссийский центр по изучению безопасности биологически активных веществ» (ВНЦ БАВ, Россия, Старая Купавна). Исследуемые соединения вводили внутрибрюшинно в терапевтической дозе равной 1/20 LD<sub>50</sub> (50 мг/кг). Значение LD<sub>50</sub> рассчитывали по данным токсикологических исследований. Оценку острой токсичности новых производных тиодиазона при их однократном внутрибрюшинном введении мышам проводили методом Прозоровского В. Б., Прозоровской М. П. (1980) [5]. В опытах по оценке острой токсичности использовали белых неинбредных мышей (n=20) обоего пола массой 21±1 г. Перед введением исследуемые вещества разводили в изотоническом растворе натрия хлорида. Вещества ЛХТ 3–10 и ЛХТ 10–10 испытывали в дозах по 7, 14, 28, 56, 112 мг на мышь (соответственно 350, 700, 1400, 2800, 5600 мг/кг). Логарифмы значений этих доз отличались на 0,3. Исследуемые соединения в указанных дозах вводили подопытным животным однократно внутрибрюшинно. Общая продолжительность наблюдения за животными составила 14 дней, причем в первый день после введения животные находились под непрерывным наблюдением. Регулярно фиксировали их общее состояние и поведение, состояние шерстного покрова, определяли массу тела. В каждой группе животных учитывали число смертельных исходов за весь срок наблюдения. В качестве препарата сравнения использовали нестероидное противовоспалительное средство диклофенак-натрий в дозе 50 мг/кг (Ортофен; Татхимпрепараты, Россия). Подопытные животные группы контроля получали изотонический раствор натрия хлорида.

Результаты исследования обработаны статистически с применением стандартного пакета программ Microsoft Office Excel 2003. Для ряда выборок вычисляли среднюю арифметическую и среднюю квадратическую ошибку. Определение нормальности распределения переменных проводили на основании гистограмм распределения, величины асимметрии и эксцесса. Для оценки достоверности различий выборок, имеющих нормальное

распределение, применяли параметрический t-критерий Стьюдента. За достоверное принимали различие при уровне вероятности 95 % и более ( $p < 0,05$ ).

**Результаты и их обсуждение.** Анализ результатов токсикологических исследований показал, что все исследованные новые производные тиодиазона при внутрибрюшинном введении подопытным мышам обладают низкой токсичностью. Было отмечено, что при введении подопытным мышам соединений ЛХТ3–10 и ЛХТ10–10 в дозах 350 мг/кг и 700 мг/кг, и 1400 мг/кг, и 2800 мг/кг все животные выжили, тогда как при введении этих соединений в дозах 5600 мг/кг погибли все подопытные мыши (таблица 1).

Таблица 1

Результаты исследования острой токсичности производных тиодиазона под лабораторными шифрами ЛХТ 3-10 и ЛХТ 10-10

№	Доза		Число погибших животных	Число животных в группе
	мг/кг	Lg		
1	350	2,4	0	2
2	700	2,7	0	2
3	1400	3,0	0	2
4	2800	3,3	0	2
5	5600	3,6	2	2

Значение  $LD_{50}$  исследованных соединений при внутрибрюшинном введении мышам составило 2500 мг, что было определено на основании данных последовательности реакций в эксперименте (0, 0, 0, 2 из 2-х) по таблице средних эффективных доз и их ошибок при разных последовательностях реакций [5]. Ошибка, откладываемая в сторону больших доз, превышала ошибку, откладываемую в сторону меньших доз, так как при проведении токсикологических исследований дозы исследуемых веществ были расположены в логарифмической шкале (логарифмы используемых доз отличались на 0,3) и ошибки были исчислены в логарифмах, то при переходе к числовым значениям ошибок они оказывались разноликими. В дальнейших исследованиях производные тиодиазона использовали в дозе, равной 5 % от  $LD_{50}$  (50 мг/кг).

Анализ результатов экспериментов по оценке анальгетической активности показал, что новые производные тиодиазона с лабораторными шифрами ЛХТ 3–10, ЛХТ 10–10 обладают способностью увеличивать время болевого оборонительного рефлекса у мышей (таблица 2).

Таблица 2

Влияние производных тиодиазона и ортофена на время оборонительного рефлекса у мышей

№	Серия опыта	Время до оборонительного рефлекса у мышей в с.			
		До опыта	30 мин	60 мин	120 мин

1.	ЛХТ 3-10 50мг/кг	14,52±0,20*	19,51±1,35*	24,84±1,52*	25,44±1,39*
2.	ЛХТ 10-10 50мг/кг	14,52±0,20*	19,84±1,35*	31,26±1,92*	28,20±1,74*
3.	Ортофен 50мг/кг	14,52±0,20*	21,7±0.7*	27,60±1,78*	30,80±1,78*
4.	Контроль изотонический раствор NaCl	14,52±0,20	14,32±0,49	14,28±46	14,04±0,48

Примечание: \* – различия с контролем достоверны ( $p < 0,05$ ).

Было выявлено, что при внутрибрюшинном введении все исследуемые соединения достоверно увеличивали время до возникновения болевого оборонительного рефлекса у подопытных животных. Следует отметить, что препарат сравнения из группы нестероидных противовоспалительных средств ортофен (50 мг/кг) при внутрибрюшинном введении увеличивал время до начала оборонительного рефлекса у мышей в среднем в 2,3 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем.

Обращает на себя внимание тот факт, что новые соединения, являющиеся производными тиодиазона, также обладали способностью увеличивать латентный период от болевого раздражения до оборонительного рефлекса у мышей. Было отмечено, что у подопытных животных при внутрибрюшинном введении соединений с лабораторными шифрами ЛХТ 3–10 (50 мг/кг) и ЛХТ 10–10 (50 мг/кг) время до оборонительного рефлекса было в среднем в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ) больше, чем в контроле (подопытные животные, получавшие изотонический раствор натрия хлорида). Приведенные данные показывают, что активность новых производных тиодиазона (ЛХТ 3–10 и ЛХТ 10–10 в дозе 5 % от  $LD_{50}$ ) в этом отношении была сопоставима с активностью диклофенака (50 мг/кг).

Таким образом, результаты экспериментального исследования показали, что среди производных тиодиазона имеются низкотоксичные соединения, обладающие анальгетической активностью. Отмечено, что обезболивающая активность соединения с лабораторным шифром ЛХТ 10–10 была несколько выше, чем у ЛХТ 3–10. Так, через час после внутрибрюшинного введения исследуемых соединений латентный период до возникновения болевого оборонительного рефлекса у подопытных животных, получавших ЛХТ10–10 был в среднем в 1,25 раза ( $p < 0,05$ ) больше, чем при введении ЛХТ 3–10. Возможно, это связано с тем, что в структуру соединения ЛХТ 10–10 входит сукцинат, обладающий выраженными антиоксидантными свойствами, тогда как ЛХТ 10–10 содержит пиколиновую кислоту, антиокислительный потенциал которой несколько слабее. Полученные данные позволяют предположить значимость антиоксидантной активности новых производных тиодиазона для реализации их обезболивающего действия.

Таким образом, результаты проведенных экспериментальных исследований показали перспективность поиска новых обезболивающих препаратов среди производных тиодиазона.

### Выводы

1. Среди производных тиодиазона имеются соединения с выраженной анальгетической активностью.
2. При внутрибрюшинном введении подопытным мышам в дозе 5 % от LD50 (50 мг/кг) новые производные тиодиазона ЛХТ 3–10 и ЛХТ 10–10 латентный период до возникновения болевого оборонительного рефлекса в среднем в 1,85 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем.
3. Анальгетическая активность веществ ЛХТ 3–10 и ЛХТ 10–10 достоверно не отличалась от эффекта ортофена в той же дозе.

### Список литературы

1. Европейская конвенция «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях». – 1986 [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.lawmix.ru/abro.php?id=11036> (дата обращения: 16.10.2011).
2. Лившиц Л. Я., Лобзин Ю. Я., Усин В. В., Никаноров Л. В. Опыт изучения распространенности хронических болевых синдромов // Российская науч.-практ. конф. "Организация медицинской помощи больным с болевыми синдромами": Тезисы докладов. – Новосибирск, 1997. – С. 34-35.
3. Международная ассоциация по изучению боли [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.isaonline.org/> (дата обращения 14.03.2012).
4. Об утверждении Правил лабораторной практики: Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23 августа 2010 г. N 708н: зарегистр. в Минюсте Рос. Федерации 13 октября 2010 г. N 18713 // Рос. газ. – 2010. – 22 октября.
5. Прозоровский В. Б., Прозоровская М. П. Табличный метод определения ЕД50 (DL50) веществ с низкой биологической активностью // Фармакология и токсикология. – 1980. – № 6. – С. 733-735.
6. Сернов Л. Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л. Н. Сернов, В. В. Гацура. – М.: ВНИЦ БАВ, 2000. – 352 с.
7. Хабриев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией чл.-корр. РАМН проф. Р. У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
8. Gureje O., Simon G. E., Van Korff M. A cross-national study of the course of persistent pain in

primary care // Pain. – 2001. – Vol. 92. – P. 195-200.

9. Mdn̄tyselka P., Kumpusalo E., Ahonen R. et al. Pain as a reason to visit the doctor: a study in Finnish primary health care // Ibid. – Vol. 89. – P. 175-180.

**Рецензенты:**

Слюсарь Николай Николаевич, профессор, доктор медицинских наук, руководитель ИП «Лаборатория профессора Слюсаря», г. Тверь.

Платонов Игорь Александрович, доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии с курсом фармации ФПК и ППС Смоленской государственной медицинской академии, г. Смоленск.