

УДК 615.212/.214:577.175.853

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-6-13>

Анальгетическая активность антагониста брадикинина – производного 1,4-бензодиазепин-2-она

Алифоренко А.Е.^{1,2}, Быков В.В.^{1,2}, Быкова А.В.², Мотов В.С.², Станкевич С.А.², Павловский В.И.^{2,3}, Хазанов В.А.², Венгеровский А.И.¹

¹ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

² ООО «Инновационные Фармакологические Разработки» (ООО «Ифар»)
Россия, 634021, г. Томск, ул. Елизаровых, 79/4

³ Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

РЕЗЮМЕ

Цель – изучить анальгетическую активность нового производного 1,4-бензодиазепин-2-она (шифр – PAV-0056) на моделях боли у мышей, противовоспалительное действие при экспериментальном экссудативном воспалении у крыс, а также его потенциальное ulcerогенное действие.

Материалы и методы. Производное 1,4-бензодиазепин-2-она, обозначенное шифром PAV-0056, вводили в растворе поливинилпирролидона в желудок 192 мышам стока CD-1 массой тела 20–25 г и 140 крысам стока Sprague Dawley массой тела 250–300 г. Анальгетическую активность соединения PAV-0056 в дозах 0,01; 0,1 и 1 мг/кг изучали у мышей на моделях острой термической боли (тесты «горячая пластина» и отдергивания хвоста при погружении в горячую воду), острой хемогенной боли (формалиновый тест) и висцеральной спастической боли (тест «уксусные корчи»). Противовоспалительное действие PAV-0056 в дозах 0,01; 0,1 и 1 мг/кг исследовали при экспериментальном воспалении, вызванном у крыс субплантарным введением брадикинина и гистамина. Потенциальное ulcerогенное влияние изучали у интактных крыс, которым вещество PAV-0056 в дозах 1 и 50 мг/кг вводили 4 раза. Анальгетический эффект соединения PAV-0056 сравнивали с действием диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг и трамадола в дозе 20 мг/кг, противовоспалительное и возможное ulcerогенное действие – с влиянием диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг.

Результаты. В тесте «горячая пластина» соединение PAV-0056 в дозе 0,1 мг/кг увеличивало у мышей время до появления первой болевой реакции на 36%, в дозе 1 мг/кг – на 46% ($p < 0,05$). В тесте отдергивания хвоста при погружении в горячую воду соединение PAV-0056 в дозе 1 мг/кг увеличивало латентное время наступления термической боли у мышей на 46% ($p < 0,05$). При субплантарном введении формалина соединение PAV-0056 в дозах 0,01–1 мг/кг оказывало выраженное анальгетическое действие, что проявлялось уменьшением на 39–55% количества болевых реакций ($p < 0,05$). При внутрибрюшинной инъекции мышам раствора уксусной кислоты соединение PAV-0056 в дозах 0,1 и 1 мг/кг уменьшало количество «корчей» на 46 и 57% соответственно, в дозе 0,1 мг/кг отодвигало наступление первой «корчи» на 21% ($p < 0,05$). В экспериментах на крысах соединение PAV-0056 препятствовало развитию экссудативного воспаления, вызванного субплантарным введением брадикинина, и не оказывало противовоспалительного эффекта при гистаминовом воспалении, не вызывало образования язв и кровоизлияний на слизистой оболочке желудка.

Заключение. Производное 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 в широком диапазоне доз (0,01–1 мг/кг) вызывает выраженную анальгезию на моделях термической, хемогенной, соматической и висцеральной боли, по анальгетической активности не уступает эффекту диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг и трамадола в дозе 20 мг/кг. Анальгетическое действие соединения PAV-0056 является селективным, мало зависит от подавления воспалительной экссудации и обусловлено антагонизмом с брадикинином. Это вещество малотоксично и не повреждает слизистую оболочку желудка.

✉ Быков Владимир Валерьевич, preclin5_dep@iphar.ru

Ключевые слова: производное 1,4-бензодиазепин-2-она, анальгетическое, противовоспалительное и потенциальное ulcerогенное действие, мыши, крысы

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке АО «Органика» (г. Новокузнецк).

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальными этическими комитетами ООО «Инновационные Фармакологические Разработки» (протокол № 77/2020 от 24.11.2020) и СибГМУ (протокол № 8992 от 21.02.2022).

Для цитирования: Алифоренко А.Е., Быков В.В., Быкова А.В., Мотов В.С., Станкевич С.А., Павловский В.И., Хазанов В.А., Венгеровский А.И. Анальгетическая активность антагониста брадикинина – производного 1,4-бензодиазепин-2-она. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(2):6–13. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-6-13>.

Analgesic effect of a bradykinin antagonist – a 1,4-benzodiazepine-2-one derivative

Aliforenko A.E.^{1,2}, Bykov V.V.^{1,2}, Bykova A.V.², Motov V.S.², Stankevich S.A.², Pavlovsky V.I.^{2,3}, Khazanov V.A.², Vengerovskii A.I.¹

¹ *Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation*

² *Innovative Pharmacology Research LLC (IPHAR LLC)
79/4, Elizarovyykh Str., Tomsk, 634021, Russian Federation*

³ *National Research Tomsk Polytechnic University (TPU)
30, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. To study the analgesic effect of a new 1,4-benzodiazepine-2-one derivative (codenamed PAV-0056) in pain models in mice, its anti-inflammatory effect in experimental exudative inflammation in rats, and its potential ulcerogenic effect.

Materials and methods. A 1,4-benzodiazepine-2-one derivative (codenamed PAV-0056) was orally administered in polyvinylpyrrolidone (PVP) solution to 192 CD-1 mice weighing 20–25 g and 140 Sprague – Dawley rats weighing 250–300 g. The analgesic effect of the PAV-0056 compound at a dose of 0.01, 0.1, and 1 mg / kg was studied in murine acute thermal pain models (hot plate test, hot water immersion tail-flick test), acute chemogenic pain models (formalin test), and visceral spasticity-related pain models (acetic acid-induced writhing test). The anti-inflammatory effect of PAV-0056 at doses of 0.01, 0.1, and 1 mg / kg was studied in an experimental rat model of inflammation induced by subplantar administration of bradykinin and histamine. The potential ulcerogenic effect was studied in intact rats, who were injected with PAV-0056 at doses of 1 and 50 mg / kg four times. The analgesic effect of the PAV-0056 compound was compared to that of diclofenac sodium at a dose of 10 mg / kg and tramadol at a dose of 20 mg / kg. Its anti-inflammatory and potential ulcerogenic effects were compared to those of diclofenac sodium at a dose of 10 mg / kg.

Results. In the hot plate test, the PAV-0056 compound at a dose of 0.1 mg / kg increased response latency in mice by 36%, and at a dose of 1 mg / kg, it increased response latency by 46% ($p < 0.05$). In the tail-flick test, the PAV-0056 compound at a dose of 1 mg / kg increased response latency to heat stimulation in mice by 46% ($p < 0.05$). After subplantar administration of formalin, PAV-0056 at doses of 0.01–1 mg / kg had a pronounced analgesic effect, as shown by a decrease in the number of pain responses by 39–55% ($p < 0.05$). When mice were intraperitoneally injected with an acetic acid solution, the PAV-0056 compound at doses of 0.1 and 1 mg / kg reduced the frequency of writhings by 46 and 57%, respectively; at a dose of 0.1 mg / kg, it delayed the onset of the first writhing by 21% ($p < 0.05$). In experiments on rats, the PAV-0056 compound prevented the development of exudative inflammation induced by subplantar administration of bradykinin and did not have an anti-inflammatory

effect in histamine-induced inflammation. PAV-0056 did not cause formation of gastric ulcers and gastric mucosal bleeding.

Conclusion. A 1,4-benzodiazepine-2-one derivative, PAV-0056, has a pronounced analgesic effect in models of thermal, chemogenic, somatic, and visceral pain in a wide range of doses (0.01–1 mg / kg). Its analgesic effects are the same as those of diclofenac sodium at a dose of 10 mg / kg and tramadol at a dose of 20 mg / kg. The analgesic effect of the PAV-0056 compound is selective, depends little on suppression of inflammatory exudation, and is caused by bradykinin antagonism. This substance has low toxicity and does not damage the gastric mucosa.

Keywords: 1,4-benzodiazepine-2-one derivative, analgesic, anti-inflammatory, and potential ulcerogenic effects, mice, rats

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was carried out with the financial support of Organica JSC (Novokuznetsk).

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at IPHAR LLC (Protocol No. 77/2020 of 24.11.2020) and Siberian State Medical University (Protocol No. 8992 of 21.02.2022).

For citation: Aliforenko A.E., Bykov V.V., Bykova A.V., Motov V.S., Stankevich S.A., Pavlovsky V.I., Khazanov V.A., Vengerovskii A.I. Analgesic effect of a bradykinin antagonist – a 1,4-benzodiazepine-2-one derivative. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(2):6–13. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-2-6-13>.

ВВЕДЕНИЕ

Болевой синдром является сложным психоэмоциональным ощущением в ответ на воздействие ноцицептивных факторов, характеризуется нарушением адаптации и ухудшением качества жизни больных [1]. Для ослабления боли применяют опиоидные, неопиоидные анальгетики и нестероидные противовоспалительные средства. Опиоидные анальгетики устраняют сильную боль любой этиологии, но угнетают дыхательный центр, создают риск развития психической, физической зависимости и привыкания [2]. Нестероидные противовоспалительные средства наиболее эффективны при боли, обусловленной раздражением ноцицепторов в очаге воспаления, среди их побочных эффектов – язвеногенное и нефротоксическое действие, нарушение функций сердечно-сосудистой системы, бронхоспазм и кровотечения [3].

Одна из современных стратегий поиска новых анальгетиков – создание антагонистов аутокидов (брадикинина, гистамина, серотонина), препятствующих их активирующему влиянию на ноцицептивную систему [4–6]. Нонапептид брадикинин образуется при воспалении, аллергии, инфекциях из тканевого кининогена при участии калликреина и активирует метаболитные В-рецепторы [7]. Брадикинин прямо раздражает чувствительные нервные окончания и способствует секреции других аллогенных факторов – субстанции P, нейрокина А и кальцитонин-ген-родственного пептида. В зоне воспаления брадикинин расширяет капилляры, увеличивает контакты между клетками эндотелия, увеличи-

чивает экссудацию и миграцию нейтрофилов, лимфоцитов и макрофагов [8]. В медицинской практике отсутствуют анальгетики с антибрадикининовым действием. В-рецепторы брадикинина блокируют производные 1,4-бензодиазепин-2-она [9–12], среди них наиболее высокой анальгетической активностью обладает соединение, обозначенное шифром PAV-0056 [13].

Целью работы являлось изучение анальгетической активности нового производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 на экспериментальных моделях боли и воспаления, а также оценка его потенциального язвеногенного действия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Соединение PAV-0056 представляет собой метил-2-(7-нитро-2-оксо-5-фенил-3-пропокси-2,3-дигидро-1H-бензо[е] [1,4] диазепин-1-ил)ацетат (рис. 1).

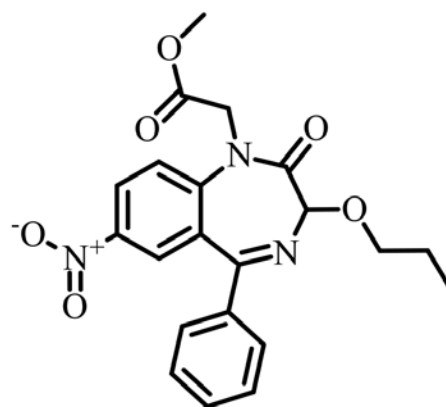


Рис. 1. Структурная формула соединения PAV-0056

Производные 1,4-бензодиазепин-2-она синтезированы в ООО «Ифар» на основе молекулярного дизайна и изучения связи химического строения с аффинитетом к бензодиазепиновым рецепторам и анальгетической активностью [14]. В этой группе веществ соединение PAV-0056 обладает минимальной токсичностью, его LD₅₀ при введении в желудок мышам и крысам > 2 000 мг/кг.

Эксперименты выполняли в испытательном центре ООО «Ифар» на свободных от патогенной микрофлоры 192 мышах самцах стока CD-1 массой тела 20–25 г и 140 крысах самцах стока Sprague Dawley массой тела 250–300 г. Животных получали из отделения лабораторных животных испытательного центра ООО «Ифар», содержали по 5–6 особей в пластиковых клетках при температуре воздуха 20–23 °С, влажности не более 50%, объеме воздухообмена (вытяжка : приток) – 8 : 10, световом режиме 12 ч день : 12 ч ночь.

Исследование одобрено локальными этическими комитетами ООО «Ифар» (протокол № 77/2020 от 24.11.2020) и СибГМУ (протокол № 8992 от 21.02.2022), проведено в соответствии с положениями Европейской конвенции по защите лабораторных животных (Страсбург, 1986) с соблюдением принципов и правил надлежащей лабораторной практики (Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 81 и ГОСТ 33044–2014).

Для оценки анальгетического действия в желудок мышам вводили соединение PAV-0056 в дозах 0,01; 0,1 и 1 мг/кг или препараты сравнения диклофенак натрия (Хемофарм, Сербия) в дозе 10 мг/кг [15] и трамадол (Pharmaceuticals Formenti S.p.A., Италия) в дозе 20 мг/кг [16]. Все вещества растворяли в 0,5 мл 1%-го водного раствора поливинилпирролидона (Plasdone S-630, Ashland Inc., США). Контрольные животные получали растворитель в эквивалентном объеме. Дозы соединения PAV-0056 были выбраны на основании ранее проведенных пилотных исследований. Анальгетическое действие оценивали через 60 мин после введения вещества PAV-0056, диклофенака натрия или трамадола, сравнивали с показателями контрольных животных. Количество животных в каждой экспериментальной группе – по 6–10 особей.

Тест «горячая пластина». Мышей (шесть групп по шесть животных в группе) помещали на нагретую до 55 ± 1 °С металлическую поверхность (термостоллик НWT-75, Россия). Измеряли время до наступления первой болевой реакции, зарегистрированной по отдергиванию и облизыванию лапок. Мыши находились на горячей пластине не более 1 мин во избежание травмирования [4, 17].

Тест отдергивания хвоста при погружении в горячую воду. Хвост мышей (шесть групп по 10 животных в группе) на половину длины погружали в воду с температурой 45 ± 1 °С (водяная баня Sakura 1450, Япония). Измеряли время до отдергивания хвоста [4, 17].

Формалиновый тест. Мышам (шесть групп по 10 животных в группе) под плантарный апоневроз задней конечности вводили 0,02 мл 0,5%-го водного раствора формалина (Sigma-Aldrich, США). В течение 60 мин регистрировали болевую реакцию по количеству облизываний и потряхиваний поврежденной лапки. В первые 15 мин (фаза I) возникает острая фаза боли, обусловленная сенситизацией периферических структур ноцицептивной системы, в последующие 45 мин (фаза II) развивается тоническая фаза, которая вызвана активацией центральных структур ноцицептивной системы [17, 18].

Тест «уксусные корчи». Мышам (шесть групп по шесть животных в группе) вводили внутривентриально 0,75%-й водный раствор уксусной кислоты (Sigma-Aldrich, США) в объеме 0,1 мл на 10 г массы тела. В течение 20 мин оценивали количество сокращений брюшных мышц («корчей») и срок до наступления первой «корчи» [17, 18].

Противовоспалительное действие соединения PAV-0056 исследовали на моделях острого экссудативного воспаления. Под апоневроз задней конечности крысам (10 групп по 10 животных в группе) вводили по 0,1 мл 0,1%-го водного раствора брадикинина или 2%-го водного раствора гистамина (оба Sigma-Aldrich, США). В другую заднюю конечность этих животных вводили 0,1 мл изотонического раствора натрия хлорида (контроль). Соединение PAV-0056 в дозах 0,01; 0,1 и 1 мг/кг или диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг [19] вводили за 1 ч до инъекции брадикинина или гистамина. Объем конечностей измеряли с помощью плетизмометра (UGO BASIL, Италия) спустя 30 мин после инъекции медиаторов воспаления. Степень уменьшения отека воспаленной конечности выражали в процентах к контролю [4].

Для исследования потенциального ulcerогенного действия интактным крысам (четыре группы по 10 животных) четырехкратно (с интервалом 24 ч) вводили в желудок соединение PAV-0056 в дозах 1 и 50 мг/кг или диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг. Через 3 ч после последнего введения животных выводили из эксперимента в атмосфере углекислого газа. Слизистую оболочку желудка на наличие эрозий, язв и кровоизлияний изучали с помощью стереоскопического микроскопа («Наблюдательные приборы», Россия), ×10. Степень повреждения оценивали по четырехбалльной шкале: 0 – отсутствие повреждений; 0,5 – гиперемия слизистой оболочки; 1 – одно или

два точечных кровоизлияния на слизистой оболочке; 2 – единичные эрозии и точечные кровоизлияния на слизистой оболочке; 3 – множественные эрозии и кровоизлияния на слизистой оболочке; 4 – массивные кровоизлияния, язвы на всем протяжении слизистой оболочки [4].

Результаты обрабатывали статистически с помощью программы Statistica v. 8.0 (StatSoft, США). Нормальность распределения значений признака оценивали с использованием критерия Шапиро – Уилка. Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – стандартная ошибка среднего значения. Различия между группами выявляли по t -критерию Стьюдента и считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В тесте «горячая пластина» производное 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 в дозе 0,1 мг/кг удлиняло латентный период до наступления болевой реакции на 36%, в дозе 1 мг/кг – на 46% по сравнению с латентным периодом у мышей, получавших поливинилпирролидон ($p < 0,05$), в дозе 0,01 мг/кг не оказывало анальгетического влияния. Диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг и трамадол в дозе 20 мг/кг увеличивали срок до появления боли на 64 и 82% соответственно ($p < 0,05$) (рис. 2). Анальгетическая активность соединения PAV-0056 в дозах 0,1 и 1 мг/кг была сопоставима с эффектом диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг ($p > 0,05$), но уступала действию трамадола в дозе 20 мг/кг ($p < 0,05$).

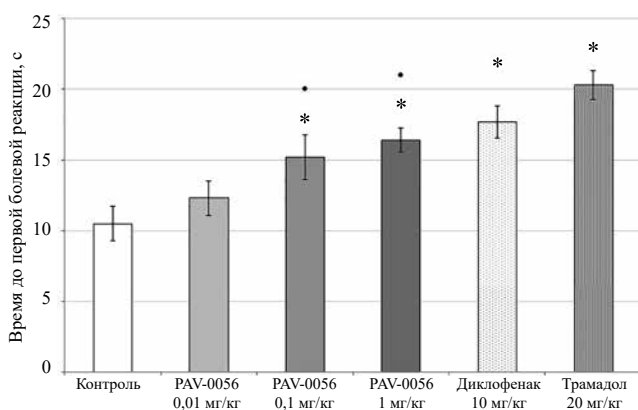


Рис. 2. Латентный период до появления болевой реакции в тесте «горячая пластина» при введении мышам соединения PAV-0056, диклофенака натрия и трамадола: * различия с показателем контрольной группы, $p < 0,05$; • различия с показателем группы, получавшей трамадол, $p < 0,05$

Соединение PAV-0056 в дозе 1 мг/кг на 46% удлиняло у мышей время до отдергивания хвоста, погруженного в горячую воду ($p < 0,05$), в дозах 0,1 и 0,01 мг/кг не вызывало анальгезию. Диклофенак на-

трия в дозе 10 мг/кг удлинял латентный период до наступления боли на 46%, трамадол в дозе 20 мг/кг – на 36%. Анальгетический эффект трамадола оказался слабым: латентный период до появления боли не отличался от показателя мышей, получавших поливинилпирролидон ($p > 0,05$) (рис. 3).

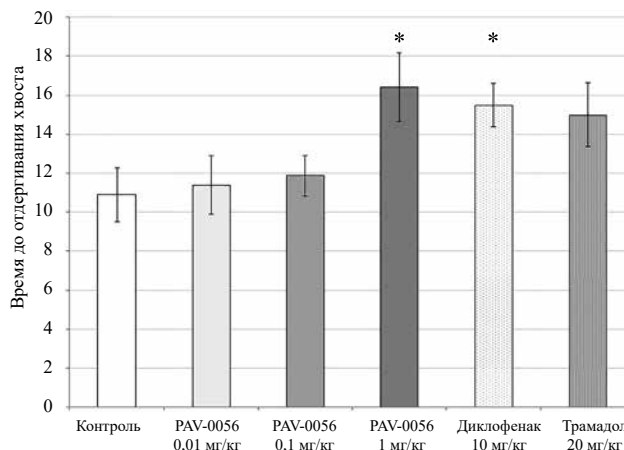


Рис. 3. Латентный период до появления болевой реакции у мышей в тесте отдергивания хвоста после погружения в горячую воду при введении соединения PAV-0056, диклофенака натрия и трамадола: * различия с показателем контрольной группы, $p < 0,05$

При субплантарной инъекции формалина производное 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 в дозах 0,01–1 мг/кг уменьшало количество болевых реакций в фазах острой и тонической боли ($p < 0,05$). Диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг и трамадол в дозе 20 мг/кг также оказывали анальгетическое действие в обеих фазах ($p < 0,05$). Соединение PAV-0056 во всех исследованных дозах вызывало анальгезию в такой же степени, как диклофенак натрия и трамадол (табл. 1).

Соединение PAV-0056 в дозе 0,1 мг/кг уменьшало на 46%, в дозе 1 мг/кг – на 57% количество «корчей», вызванных внутрибрюшинной инъекцией раствора уксусной кислоты, в дозе 0,1 мг/кг увеличивало время до наступления первой «корчи» на 21% ($p < 0,05$). Диклофенак натрия и трамадол уменьшали количество «корчей» на 49 и 68%, удлиняли срок до наступления первой «корчи» на 49 и 52% соответственно ($p < 0,05$). Анальгетическое действие соединения PAV-0056 в дозах 0,1 и 1 мг/кг не уступало эффекту диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг, в дозе 0,1 мг/кг было слабее действия трамадола в дозе 20 мг/кг (табл. 2).

Вклад противовоспалительного эффекта в механизм анальгетического действия производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 в дозах 0,01; 0,1 и 1 мг/кг исследовали на моделях экссудативного воспаления, вызванного у крыс субплантарной инъекцией раствора брадикинина или гистамина.

Таблица 1

Анальгетическая активность соединения PAV-0056, диклофенака натрия и трамадола при введении мышам в формалиновом тесте, $M \pm m$						
Показатель	Контроль, $n = 10$	PAV-0056 0,01 мг/кг, $n = 10$	PAV-0056 0,1 мг/кг, $n = 10$	PAV-0056 1 мг/кг, $n = 10$	Диклофенак 10 мг/кг, $n = 10$	Трамадол 20 мг/кг, $n = 10$
Фаза I	31 ± 3	19 ± 1*	14 ± 1*	16 ± 1*	20 ± 4*	21 ± 3*
Фаза II	15 ± 2	6 ± 1*	6 ± 2*	8 ± 3*#	7 ± 2*	9 ± 2*

* $p < 0,05$ по сравнению с показателем контрольных животных здесь и в табл. 2–4.

Выявлен один выброс, определенный критерием Смирнова – Граббса.

Таблица 2

Анальгетическая активность соединения PAV-0056, диклофенака натрия и трамадола при введении мышам в тесте «кусуные корчи», $M \pm m$						
Показатель	Контроль, $n = 6$	PAV-0056 0,01 мг/кг, $n = 6$	PAV-0056 0,1 мг/кг, $n = 6$	PAV-0056 1 мг/кг, $n = 6$	Диклофенак 10 мг/кг, $n = 6$	Трамадол 20 мг/кг, $n = 6$
Время до наступления первой «корчи», с	258 ± 8	336 ± 66	312 ± 10*#	326 ± 59	385 ± 39*	393 ± 47*
Количество «корчей», шт.	37 ± 1	29 ± 4	20 ± 2*	16 ± 2*	19 ± 4*	12 ± 3*

$p < 0,05$ по сравнению с показателем группы, получавшей трамадол.

Препаратом сравнения являлся диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг [19]. При введении за 1 ч до инъекции брадикинина соединение PAV-0056 уменьшало отек конечности на 33–58% ($p < 0,05$) (табл. 3), при гистаминовом отеке противовоспалительный эффект PAV-0056 был выражен незначительно, объем конеч-

ности становился меньше всего на 6–16% ($p > 0,05$). Диклофенак натрия препятствовал развитию отека лапки на 43–54% при обеих моделях воспаления ($p < 0,05$) (табл. 4). Результаты этого эксперимента свидетельствуют об антагонизме вещества PAV-0056 с брадикинином и слабом антигистаминовом эффекте.

Таблица 3

Противовоспалительная активность соединения PAV-0056 и диклофенака натрия в тесте с субплантарной инъекцией брадикинина крысам, $M \pm m$					
Показатель	Контроль, $n = 10$	PAV-0056 0,01 мг/кг, $n = 10$	PAV-0056 0,1 мг/кг, $n = 10$	PAV-0056 1 мг/кг, $n = 10$	Диклофенак 10 мг/кг, $n = 10$
Величина отека конечности, мл	0,24 ± 0,02	0,16 ± 0,03*	0,08 ± 0,03*	0,10 ± 0,02*	0,11 ± 0,02*

Таблица 4

Противовоспалительная активность соединения PAV-0056 и диклофенака натрия в тесте с субплантарной инъекцией гистамина крысам, $M \pm m$					
Показатель	Контроль, $n = 10$	PAV-0056 0,01 мг/кг, $n = 10$	PAV-0056 0,1 мг/кг, $n = 10$	PAV-0056 1 мг/кг, $n = 10$	Диклофенак 10 мг/кг, $n = 10$
Величина отека конечности, мл	0,30 ± 0,08	0,32 ± 0,09	0,28 ± 0,11	0,25 ± 0,10	0,17 ± 0,05*

При четырехкратном введении крысам в желудок производное 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 в дозах 1 и 50 мг/кг не оказывало ульцерогенного эффекта: в слизистой оболочке желудка отсутствовали язвы и кровоизлияния. При четырехкратном введении диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг вызывал множественные повреждения – кровотокающие эрозии и язвы (3,5 балла).

Таким образом, производное 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 проявляет анальгетическую активность в широком диапазоне доз (0,01–1 мг/кг)

и не уступает эффектам нестероидного противовоспалительного средства диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг и опиоидного анальгетика трамадола в дозе 20 мг/кг. В тесте «горячая пластина» соединение PAV-0056 вызывает умеренную аналгезию, так как термическая соматическая боль возникает с минимальным участием медиаторов воспаления, терморцепторы передают болевую информацию в ретикулярную формацию среднего мозга и таламус. В тесте отдергивания хвоста, погруженного в горячую воду, активируются высокопороговые механорецеп-

торы на большой поверхности теплового раздражения, болевой сигнал по полимодальным волокнам С и Аδ проводится преимущественно в задние рога спинного мозга и затем передается на мотонейроны передних рогов [20]. Можно предположить, что более выраженная анальгетическая активность соединения PAV-0056 в тесте «горячая пластина» связана с активацией антиноцицептивной системы головного мозга.

Соединение PAV-0056 эффективно ослабляло хемогенную боль, вызванную формалином и уксусной кислотой. В формировании такой боли основное значение имеет раздражение брадикинином ноцицепторов в зоне повреждения. При субплантарной инъекции формалина мышам соединение PAV-0056 больше уменьшало количество потряхиваний лапкой, чем число ее облизываний. Это обусловлено блокадой ноцицепторов и торможением передачи потенциалов действия по афферентным нервным волокнам в задние рога спинного мозга с подавлением соматического рефлекса. Вещество PAV-0056 слабее влияет на обработку болевых сигналов в коре больших полушарий, поэтому меньше препятствует формированию осознанного ответа на боль в виде облизывания лапки.

Соединение PAV-0056 оказывает анальгетическое и противовоспалительное влияние, обусловленное антагонизмом с брадикинином, и менее эффективное при воспалении, вызванном гистамином. Анальгетический и противовоспалительный эффекты диклофенака натрия вызваны антагонизмом с простагландинами, гистамином и в меньшей степени с брадикинином. В тесте радиолигандного связывания с циторекцепторами яичника китайского хомячка было показано, что некоторые производные бензодиазепина, близкие по структуре с PAV-0056, в наномолярных концентрациях блокируют В-рецепторы [10].

Важным достоинством производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 является отсутствие ulcerогенного действия. Как известно, нестероидные противовоспалительные средства, ингибируя циклооксигеназу-1, тормозят синтез гастропротективных простагландинов и серьезно повреждают слизистую оболочку желудка [21]. В проведенном нами эксперименте диклофенак натрия вызывал образование в желудке многочисленных язв, осложненных кровотечением.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании впервые продемонстрирована анальгетическая активность нового производного 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 на экспериментальных моделях термической и хемоген-

ной (соматической, висцеральной) боли. Соединение PAV-0056 оказывает умеренное антиэкссудативное действие при экспериментальном воспалении, вызванном брадикинином. Оно не повреждает слизистую оболочку желудка. Анальгетическое действие вещества PAV-0056 выражено не слабее эффекта диклофенака натрия и трамадола. Производное 1,4-бензодиазепин-2-она оценивается как перспективное и безопасное лекарственное средство с селективным анальгетическим влиянием.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Kumar K.H., Elavarasi P., David C.M. Definition of pain and classification of pain disorders. *JCRI*. 2016;3:87–90. DOI: 10.15713/ins.jcri.112.
2. Rizzi A., Ruzza C., Bianco S., Trapella C., Calo' G. Antinociceptive action of NOP and opioid receptor agonists in the mouse orofacial formalin test. *Peptides*. 2017;94:71–77. DOI: 10.1016/j.peptides.2017.07.002.
3. Lanas A., Chan F.K.L. Peptic ulcer disease. *Lancet*. 2017;390(10094):613–624. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)32404-7.
4. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2013:944.
5. Gonçalves E.C.D., Vieira G., Gonçalves T.R., Simões R.R., Brusco I., Oliveira S.M. et al. Bradykinin receptors play a critical role in the chronic postischaemia pain model. *Cell Mol. Neurobiol.* 2021;41(1):63–78. DOI: 10.1007/s10571-020-00832-3.
6. Литвицкий П.Ф. Воспаление. *Вопросы современной педиатрии*. 2006;5(4):75–81.
7. Kaplan A.P., Joseph K., Silverberg M. Pathways for bradykinin formation and inflammatory disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002;109(2):195–209. DOI: 10.1067/mai.2002.121316.
8. Goliás Ch., Charalabopoulos A., Stagikas D., Charalabopoulos K., Batistatou A. The kinin system – bradykinin: biological effects and clinical implications. Multiple role of the kinin system – bradykinin. *Hypokratia*. 2007;11(3):124–128.
9. Dziadulewicz E.K., Brown M.C., Dunstan A.R., Lee W., Said N.B., Garratt P.J. The design of non-peptide human bradykinin B₂ receptor antagonists employing the benzodiazepine peptidomimetic scaffold. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1999;9(3):463–468. DOI: 10.1016/S0960-894X(99)00015-3.
10. Wood M.R., Kim J.J., Han W., Dorsey B.D., Homnick C.F., DiPardo R.M. et al. Benzodiazepines as potent and selective bradykinin B1 antagonists. *J. Med. Chem.* 2003;46(10):1803–1806. DOI: 10.1021/jm034020y.
11. Pavlovsky V.I., Tsymbalyuk O.V., Martynyuk V.S., Kabanova T.A., Semenishyna E.A., Khalimova E.I. et al. Analgesic effects of 3-substituted derivatives of 1,4-benzodiazepines and their possible mechanisms. *Neurophysiology*. 2013;45:427–432. DOI: 10.1007/s11062-013-9389-y.
12. Павловский В.И., Ушаков И.Ю., Кабанова Т.А., Халимова Е.И., Кравцов В.Х., Андронати С.А. Синтез и анальгетическая активность 3-ариламино-1,2-дигидро-3н-1,4-бензодиазепин-2-онов. *Химико-фармацевтический журнал*.

- 2015;49(9):22–27. DOI: 10.30906/0023-1134-2015-49-9-22-27.
13. Павловский В.И., Хазанов В.А., Станкевич С.А., изобретатели; Общество с ограниченной ответственностью «Инновационные Фармакологические Разработки» (ООО «Ифар»), правопреемник. Производные 1,4-бензодиазепин-2-она и их применение. Патент Российской Федерации RU 2701557 C2. 30 сентября 2019 г. РФ.
 14. Virych P.A., Shelyuk O.V., Kabanova T.A., Khalimova E.I., Martynyuk V.S., Pavlovsky V.I. et al. Effect of 3-substituted 1,4-benzodiazepin-2-ones on bradykinin-induced smooth muscle contraction. *Ukr. Biochem. J.* 2017;89(1):31–37. DOI: 10.15407/ubj89.01.031.
 15. Hasani A., Soljakova M., Jakupi M., Ustalar-Ozgen S. Preemptive analgesic effects of midazolam and diclofenac in rat model. *Bosn. J. Basic Med. Sci.* 2011;11(2):113–118. DOI: 10.17305/bjms.2011.2593.
 16. Bandapati S., Podila K.S., Yadala V.R. Comparative study of antinociceptive effect of venlafaxine with tramadol by tail-flick test in animal model of mice. *Natl. J. Physiol. Pharm. Pharmacol.* 2021;11(6):633–637. DOI: 10.5455/njpp.2021.11.11307202001022021.
 17. Gregory N.S., Harris A.L., Robinson C.R., Dougherty P.M., Fuchs P.N., Sluka K.A. An overview of animal models of pain: disease models and outcome measures. *J. Pain.* 2013;14(11):1255–1269. DOI: 10.1016/j.jpain.2013.06.008.
 18. Чайка А.В., Черетаев И.В., Хусаинов Д.Р. Методы экспериментального доклинического тестирования анальгетического действия различных факторов на лабораторных крысах и мышах. *Ученые записки Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского.* 2015;1(67):161–173.
 19. Santos L.H., Feres C.A., Melo F.H., Coelho M.M., Nothenberg M.S., Oga S. et al. Anti-inflammatory, antinociceptive and ulcerogenic activity of a zinc-diclofenac complex in rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2004;37(8):1205–1213. DOI: 10.1590/S0100-879X2004000800011.
 20. Бондаренко Д.А., Дьяченко И.А., Скобцов Д.И., Мурашев А.Н. *In vivo* модели для изучения анальгетической активности. *Биомедицина.* 2011;2:84–94.
 21. Takeuchi K. Pathogenesis of NSAID-induced gastric damage: importance of cyclooxygenase inhibition and gastric hypermotility. *World J. Gastroenterol.* 2012;18(18):2147–2160. DOI: 10.3748/wjg.v18.i18.2147.

Вклад авторов

Алифороенко А.Е., Быков В.В., Быкова А.В., Мотов В.С. – разработка концепции и дизайна, выполнение экспериментальной части исследования, анализ и интерпретация данных. Павловский В.И. – химический синтез соединения PAV-0056. Хазанов В.А., Станкевич С.А. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Венгерровский А.И. – окончательное утверждение рукописи для публикации.

Информация об авторах

Алифороенко Анастасия Евгеньевна – аспирант, кафедра фармакологии, СибГМУ; мл. науч. сотрудник, ООО «Ифар», г. Томск, clin_dep2@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1656-8429>

Быков Владимир Валерьевич – канд. мед. наук, ст. преподаватель, кафедра фармакологии, СибГМУ; начальник отдела фармакологических исследований, ООО «Ифар», г. Томск, preclin5_dep@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5145-2184>

Быкова Арина Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, ООО «Ифар», г. Томск, preclin7_dep@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8495-8560>

Мотов Валерий Сергеевич – науч. сотрудник, ООО «Ифар», г. Томск, preclin13_dep@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0197-7521>

Станкевич Сергей Александрович – канд. мед. наук, науч. руководитель доклинических исследований, ООО «Ифар», г. Томск, project_dep@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1313-4967>

Павловский Виктор Иванович – д-р хим. наук, профессор, научно-образовательный центр Н.М. Кижнера, НИ ТПУ; вед. науч. сотрудник, ООО «Ифар», г. Томск, med_chem@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4583-6245>

Хазанов Вениамин Абрамович – д-р мед. наук, профессор, генеральный директор, ООО «Ифар», г. Томск, gen_dir@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8833-785X>

Венгерровский Александр Исаакович – д-р мед. наук, профессор, кафедра фармакологии, СибГМУ, г. Томск, pharm-sibgmu@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5094-3742>

(✉) **Быков Владимир Валерьевич**, preclin5_dep@iphar.ru

Поступила в редакцию 11.08.2022;
одобрена после рецензирования 05.09.2022;
принята к публикации 08.12.2022