

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИНОЦИЦЕПТИВНОЙ АКТИВНОСТИ НОВОЙ МОЛЕКУЛЫ ИЗ КЛАССА ГЕКСААЗАИЗОВУРЦИТАНОВ

Е.А. Киселева¹, С.Г. Крылова^{1,*}, Т.Н. Поветьева¹, Ю.В. Нестерова¹, О.Г. Афанасьева¹,
П.В. Кульпин¹, Д.А. Кулагина², Е.П. Зуева¹, Н.И. Суслов¹, В.В. Еремина²,
О.В. Байбакова², С.В. Сысолятин², В.В. Жданов¹

¹ Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины
имени Е.Д. Гольдберга, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»
634028, Российская Федерация, Томск, пр. Ленина, 3

² ФГБНУ Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения РАН
659322, Российская Федерация, Алтайский край, Бийск, ул. Социалистическая, 1

Изучение фармакологической активности на моделях соматогенной боли различного генеза (при термической, висцеральной боли, механической компрессии) выявило высокую обезболивающую активность впервые синтезированного вещества 4-(3,4-дибромтиофенилкарбонил)-10-(2-этоксиацетил)-2,6,8,12-тетраацетил-2,4,6,8,10,12гексаазатетрацикло[5,5,0,0³,11,0⁵,9]додекана (МЗ), сравнимую и/или превышающую эффект трамадола. Показано, что новая молекула из класса гексаазаизовурцитанов эффективно блокирует ноцицептивные реакции на супраспинальном, спинальном и периферическом уровнях организации болевой чувствительности. Полученные результаты подтверждают возможность разработки фармакологически активных молекул на основе высокоэнергетического вещества гексаазаизовурцитана, что является отечественным приоритетным направлением в мировой фармации.

Ключевые слова: гексаазаизовурцитан, анальгетик, модели соматогенной боли, трамадол

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Киселева Е.А., Крылова С.Г., Поветьева Т.Н., Нестерова Ю.В., Афанасьева О.Г., Кульпин П.В., Кулагина Д.А., Зуева Е.П., Суслов Н.И., Еремина В.В., Байбакова О.В., Сысолятин С.В., Жданов В.В. Исследование антиноцицептивной активности новой молекулы из класса гексаазаизовурцитанов. *Биомедицина*. 2023;19(1):61–72. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-1-61-72>

Поступила 07.07.2022

Принята после доработки 17.10.2022

Опубликована 10.03.2023

STUDY INTO ANTINOCICEPTIVE ACTIVITY OF A NEW MOLECULE FROM THE CLASS OF HEXAAZAIZOWURZITANE

Elena A. Kiseleva¹, Svetlana G. Krylova^{1,*}, Tatyana N. Povet`eva¹, Yuliya V. Nesterova¹,
Olga G. Afanas`eva<sup>1</sup>, Pavel V. Kul`pin¹, Daria A. Kulagina², Elena P. Zueva¹,
Nikolay I. Suslov¹, Valeria V. Eremina², Olga V. Baibakova²,
Sergey V. Sysolyatin², Vadim V. Zhdanov¹

¹ Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine,
Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences
634028, Russian Federation, Tomsk, Lenina Ave., 3

² Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies of the Siberian Branch
of Russian Academy of Sciences
659322, Russian Federation, Altai Territory, Biysk, Sotsialisticheskaya Str., 1

In this work, we studied the pharmacological activity of a newly-synthesized compound 4-(3,4-dibromothiophenylcarbonyl)-10-(2-ethoxyacetyl)-2,6,8,12-tetraacetyl-2,4,6,8,10,12-hexaazatetracyclo[5,5,0,0^{3,11},0^{5,9}]dodecane (M3) using somatogenic pain models of various genesis (thermal and visceral pain, mechanical compression of a paw). The compound showed a high antinociceptive efficacy, comparable to or exceeding that of tramadol. It was shown that the new molecule from the class of hexaazaisowurtzitane effectively blocks nociceptive reactions at the supraspinal and peripheral levels of pain sensitivity organization. The results obtained confirm the possibility of creating new pharmacologically active molecules based on the high-energy substance of hexaazaisowurtzitane, which is a priority in domestic pharmaceutical production.

Keywords: hexaazaisowurtzitane, analgetic, models of somatogenic pain, tramadol

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Kiseleva E.A., Krylova S.G., Povet'eva T.N., Nesterova Y.V., Afanas'eva O.G., Kul'pin P.V., Kulagina D.A., Zueva E.P., Suslov N.I., Eremina V.V., Baibakova O.V., Sysolyatin S.V., Zhdanov V.V. Study Into Antinociceptive Activity of a New Molecule from the Class of Hexaazaisowurtzitane. *Journal Biomed.* 2023;19(1):61–72. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-1-61-72>

Submitted 07.07.2022

Revised 17.10.2022

Published 10.03.2023

Введение

Современный арсенал анальгетиков в большинстве стран мира базируется на классических синтетических и полусинтетических соединениях, реализующих свой противоболевой потенциал путём взаимодействия с разнообразными рецепторами периферической и центральной нервной системы. В настоящее время сформированы представления о терапевтическом потенциале каждой из групп анальгетиков, фармакологи продолжают разрабатывать различные лекарственные формы, совершенствовать пути доставки субстанции, врачи — оптимизировать современные стандарты терапии острых и хронических болевых синдромов [9, 11, 14]. Результатом этой фармацевтической эволюции стало появление большого количества болеутоляющих средств, смягчены клинические проявления нежелательных и побочных эффектов [6, 9]. Однако задача купирования острых и лечения хронических болевых синдромов не теряет своей актуальности и отражает растущую потребность в эффективных и безопасных средствах анальгетической терапии. Масштаб проблем, связанных с нежелательными побочными эффектами

НПВС и злоупотреблением опиоидными анальгетиками как лекарственными препаратами для медицинского применения, привёл к т. н. «опиоидному кризису» [2, 5, 6, 9]. Исходя из вышесказанного, необходимость дальнейшего изыскания и изучения принципиально новых молекулярных структур по фармакодинамическим и фармакокинетическим характеристикам для разработки безопасных и эффективных анальгетиков сохраняет социальную и медицинскую значимость.

Перспективным направлением в области современной органической и медицинской химии является создание селективных методов синтеза фармакологически активных соединений на основе азотсодержащих гетероциклических структур [12]. В работах последних лет российскими учёными доказана возможность применения высокоэнергетического вещества 2, 4, 6, 8, 10, 12гексаазатетрацикло[5, 5, 0, 0^{3,11}, 0^{5,9}]додекана(гексаазизовюрцитана) в качестве фармакофора для синтеза инновационных молекул-кандидатов для разработки эффективных анальгетиков [7, 12]. Так, на основе first-in-class молекулы из класса гексаазизовюрцитанов — 4-(3,4-дибромтиофенкарбонил)-2,6,8,

12-тетраацетил-2, 4, 6, 8, 10, 12 гексаазатетрацикло[5, 5, 0, 0^{3,11}, 0^{5,9}]додекана — создан экспериментальный образец высокоэффективного малотоксичного анальгетика «Тиовюрцин, капсулы 120 мг» с мультитаргетным механизмом действия [2, 7, 10]. Заявленное научное направление получило дальнейшее развитие, в результате чего в соответствии с разработанной методологией в ИПХЭТ СО РАН синтезирована новая гибридная молекула — 4-(3,4-дибромтиофенилкарбонил)-10-(2-этоксияцетил)-2, 6, 8, 12-тетраацетил-2, 4, 6, 8, 10, 12гексаазатетрацикло[5, 5, 0, 0^{3,11}, 0^{5,9}] додекан (МЗ) из класса гексаазаизовюрцитанов. Показано, что МЗ обладает низким профилем токсичности: при максимально возможном объёме однократного введения вещества: LD₅₀ (или гибели животных) достигнуто не было. Пилотные исследования МЗ позволили выбрать дозы 25, 50, 100 и 200 мг/кг при внутрижелудочном пути введения, обусловленном физико-химическими свойствами вещества, для изучения анальгетической активности.

Целью данной работы явилось исследование анальгетического действия 4-(3,4-дибромтиофенилкарбонил)-10-(2-этоксияцетил)-2, 6, 8, 12-тетраацетил-2, 4, 6, 8, 10, 12 гексаазатетрацикло[5, 5, 0, 0^{3,11}, 0^{5,9}]додекана в сравнении с трамадолом в тестах соматогенной боли («кусусные корчи», «термическая иммерсия хвоста», «механическая компрессия лапы»).

Материалы и методы

Эксперименты были выполнены на аутбредных мышах-самцах (n=194) CD1 (массой 22–27 г) первой категории конвенциональных, полученных из отдела экспериментального биомоделирования НИИФирМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ. Содержание животных и дизайн экспериментов были одобрены комиссией по биоэтике НИИФирМ им. Е.Д. Гольдберга и соответствовали директиве 2010/63/EU Европейского

парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях; ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» от 01.08.2015.

Животные содержались в условиях конвенционального вивария в неполной барьерной системе при нормативных параметрах окружающей среды. Мышей размещали в полисульфоновых или поликарбонатных клетках (VELAZ, Чехия или Tecniplast, Италия) в соответствии с нормами размещения (не более 8–10 особей). Животные имели постоянный доступ к корму и воде. Все эксперименты были проведены в осенне-зимний период. Выведение животных из эксперимента осуществляли в CO₂-камере.

Объектом исследования являлось вещество 4-(3,4-дибромтиофенилкарбонил)-10-(2-этоксияцетил)-2, 6, 8, 12-тетраацетил-2, 4, 6, 8, 10, 12-гексаазатетрацикло[5, 5, 0, 0^{3,11}, 0^{5,9}]додекан, впервые полученное методом направленного синтеза по результатам анализа профиля потенциальной биологической активности согласно расчётам программы PASS в ИПХЭТ СО РАН (Бийск, Россия).

Соединение представляет собой кристаллический продукт с содержанием основного вещества 99,14% (метод ВЭЖХ), с растворимостью: в этаноле — 0,14 г/л, в воде — 0,016 г/л. Характеристика МЗ полностью подтверждена физико-химическими методами исследования, включающими в себя ИК- и ЯМР-спектроскопию, элементный анализ.

Вещество вводили в желудок через атравматичный зонд ежедневно в диапазоне доз 25–200 мг/кг в течение 1–3 сут, в случае курсового применения тиовюрцина последнее введение осуществляли за 1 ч до тестирования болевой чувствительности. В качестве растворителя использовали воду очищенную с добавлением 20 мкл ТВИН-80 (Полисорбат LAUROPAN T/80, Италия) на 1 мл воды. В качестве препарата

сравнения применяли трамадол (ОАО «Органика») в дозе 10 мг/кг *per os*. Мыши групп контроля получали эквивалентные количества растворителя при аналогичном пути и режиме введения.

На модели «уксусные корчи» (abdominal constriction test), направленной на исследование острой висцеральной и соматически глубокой боли, анальгетический эффект оценивали по способности вещества (в течение 15 мин после внутрибрюшинной инъекции 0,75% р-ра уксусной кислоты в количестве 0,1 мл/10 г массы тела мыши) уменьшать (в процентах) количество «корчей» по сравнению с контролем [1, 8]. Болевое раздражение в тесте «тепловой иммерсии хвоста» (tail immersion) моделировали погружением хвоста мыши в горячую воду температурой 54 °С в установке с термостатом [1, 8]. Регистрировали латентный период реакции отдергивания хвоста (время избавления от болевого раздражителя). Удлинение времени реакции интерпретировали как обезболивающее действие, при этом максимальное время экспозиции хвоста в горячей воде составляло 30 сек. Критерием анальгетической активности считали эффективность по показателю максимального возможного эффекта (МВЭ, %): $\text{ЛП}_0 - \text{ЛП}_k / (30 - \text{ЛП}_k) \times 100$, где ЛП_0 — латентный период ноцицептивной реакции в опытной группе; ЛП_k — латентный период ноцицептивной реакции в контрольной группе; 30 — максимальное время экспозиции для мышей (в секундах). В тесте «механической компрессии» лапы использовали анальгезиметр («Ugo Basile», Италия) для оценки порога болевой чувствительности по методу Рэндалла – Селитто (Randall – Selitto test) [1, 8]. Критерием анальгетического эффекта считали статистически значимое уменьшение интенсивности болевых реакций, оценённой (в г) по силе воздействия на лапу, латентному времени болевой реакции, числу животных без болевой реакции в течение 15 сек фиксации мыши в анальгезиметре.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Для всех данных рассчитаны: среднее значение ($\bar{X}$) и стандартное отклонение (m), которые вместе со значением n (количество вариант) представлены в итоговых таблицах. Межгрупповые различия проверялись с использованием непараметрического критерия Краскела–Уоллиса и Вилкоксона–Манна–Уитни, для сравнения частот использовали критерий углового преобразования Фишера. При повторном измерении применяли дисперсионный двухфакторный анализ (two-way ANOVA). Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$ [3, 4].

Результаты исследований

Как видно из таблицы 1, у животных группы контроля отмечали в течение 15 мин наблюдения выраженную болевую реакцию, которая заключалась в развитии уксусных «корчей» ($22,6 \pm 2,1$) при латентном времени их наступления (222 ± 18) с.

Трамадол в терапевтической дозе 10 мг/кг при курсовом введении (3 сут) купировал болевой ответ (УБР=22,1%) за счёт снижения количества «корчей» в 1,3 раза и статистически значимого повышения латентного времени развития болевой реакции в 1,2 раза относительно такового показателя контроля (табл. 1).

Исследуемое вещество в дозе 25 мг/кг оказывало анальгетическую активность (33,6%), обусловленную статистически значимым снижением количества «корчей» в 1,5 раза и увеличением латентного времени наступления болевой реакции в 1,4 раза ($p < 0,05$) (табл. 1). После введения МЗ в дозе 50 мг/кг отмечалось его обезболивающее действие (35,8%), которое выражалось в снижении количества «корчей» в 1,6 раза ($p < 0,05$) и увеличении латентного времени развития болевой реакции в 1,6 раза ($p < 0,05$) по сравнению с соответствующи-

Таблица 1. Анальгетическая активность вещества М3 после курсового (3 сут) введения в диапазоне доз 25, 50, 100 и 200 мг/кг *per os* в сравнении с трамадолом (10 мг/кг *per os*) на модели химического болевого раздражения брюшины у аутобредных мышей-самцов CD1

Table 1. Analgesic activity of the substance M3 after a course (3 days) application in the dose range of 25, 50, 100 and 200 mg/kg *per os* (3 days) in comparison with tramadol on an abdominal constriction test in outbred CD1 male mice

Группа наблюдения, доза (количество животных)	Количество «корчей» за 15 мин ($\bar{X} \pm m$)	Латентное время развития болевой реакции ($\bar{X} \pm m$), сек	Угнетение болевой реакции, %
1. Контроль (n=16)	22,6 $\pm$ 2,1	222 $\pm$ 18	0
2. Трамадол, 10 мг/кг (n=10)	17,6 $\pm$ 1,8	278 $\pm$ 17 ^{*1-2}	22,1
3. М3, 25 мг/кг (n=10)	15,0 $\pm$ 3,0 ^{*1-3}	302 $\pm$ 39 ^{*1-3}	33,6
4. М3, 50 мг/кг (n=10)	14,5 $\pm$ 3,2 ^{*1-4}	345 $\pm$ 67 ^{*1-4}	35,8
5. М3, 100 мг/кг (n=10)	9,6 $\pm$ 1,2 ^{**1-5, **2-5}	293 $\pm$ 25 ^{*1-5}	57,5 ^{#2-5}
6. М3, 200 мг/кг (n=10)	10,6 $\pm$ 2,5 ^{**1-6, **2-6}	309 $\pm$ 25 ^{*1-6}	53,1

Примечание: после * ($p < 0,05$) и ** ($p < 0,01$) указаны номера сравниваемых групп (критерий Манна–Уитни, критерий Краскела–Уоллисса); # — $p < 0,05$ (критерий Фишера).

Note: the numbers after * ($p < 0.05$) and ** ($p < 0.01$) indicate the compared groups (according to Kruskal–Wallis and Wilcoxon–Mann–Whitney), # — $p < 0.05$ (according to Fischer).

ми значениями контроля. Увеличение дозы вещества до 100 мг/кг приводило к повышению его антиноцицептивного действия до 57,5%, поскольку все изучаемые показатели оказались статистически значимы по сравнению с соответствующими значениями контроля. Кроме того, выявлена преобладающая активность М3 по сравнению с трамадолом, которая выражалась в снижении количества «корчей» в 1,8 раза ($p < 0,01$) относительно показателя референс-препарата. Повышение дозы вещества до 200 мг/кг не приводило к увеличению эффективности, поскольку анальгетическая активность составила 53,1% ($p < 0,01$) за счёт статистически значимого снижения количества «корчей» в 2,1 раза относительно соответствующего значения контроля. Вместе с тем, М3 в этой дозе превышало активность трамадола по количеству «корчей», которое оказалось меньше в 1,7 раза ($p < 0,01$).

Таким образом, вещество М3 в тесте «уксусные корчи» проявило выраженную анальгетическую активность в диапазоне доз 25–200 мг/кг, превышающую эффект референс-препарата в дозах 100 и 200 мг/кг. Снижение болевой реакции более чем на 50% в тесте «уксусные корчи», коррелирующем с клинической ситуацией острого

перитонита, свидетельствует о целесообразности исследования в ноцицептивных тестах с другими болевыми раздражителями.

Обезболивающее действие трамадола в тесте «термической иммерсии хвоста» при погружении в горячую воду заключалось в статистически значимом увеличении латентного времени болевой реакции в 2,1 раза относительно соответствующего значения контроля, в результате чего его эффект составил 49,8% (табл. 2).

Исследуемое вещество М3 продемонстрировало выраженное обезболивающее действие при введении во всех дозах (табл. 2). После применения дозы 25 мг/кг выявлен максимальный эффект соединения (75,6%), превышающий аналогичное значение контроля в 2,7 раза ($p < 0,01$) и трамадола в 1,3 раза ($p < 0,05$). В результате введения М3 в дозах 50, 100 и 200 мг/кг показатели латентного времени болевой ответа имели статистически значимую разницу только со значением контроля, а показатели максимально выраженного эффекта оказались сравнимы с трамадолом (49,8%) и составили 60,8%, 70,3% и 69,9% соответственно. Кроме того, выявлены животные с максимальным проявлением обезболивающего эффекта — экспозицией хвоста в течение 30 сек в горячей воде: после введения доз

Таблица 2. Анальгетический эффект МЗ после однократного применения в диапазоне доз 25, 50, 100 и 200 мг/кг *per os* в сравнении с трамадолом (10 мг/кг *per os*) в тесте «тепловая иммерсия хвоста» у аутбредных мышей-самцов CD1

Table 2. Analgesic effect of M3 after a single application in the dose range of 25, 50, 100 and 200 mg/kg *per os* compared with tramadol (10 mg/kg *per os*) in a thermal tail immersion test in outbred mice CD1

Группа, доза (количество животных)	Латентное время развития болевой реакции, сек ($\bar{X} \pm m$)	Максимально выраженный эффект, %	Количество мышей с 30 сек экспозицией, %
1. Контроль (n=12)	9,1 $\pm$ 1,2	222 $\pm$ 18	0
2. Трамадол, 10 мг/кг (n=10)	19,5 $\pm$ 2,1**1-2	278 $\pm$ 17*1-2	22,1
3. МЗ, 25 мг/кг (n=10)	24,9 $\pm$ 2,0**1-2, *2-6	302 $\pm$ 39*1-3	33,6
4. МЗ, 50 мг/кг (n=10)	21,8 $\pm$ 2,6**1-3	345 $\pm$ 67*1-4	35,8
5. МЗ, 100 мг/кг (n=10)	23,8 $\pm$ 2,1**1-4	293 $\pm$ 25*1-5	57,5#2-5
6. МЗ, 200 мг/кг (n=10)	23,7 $\pm$ 2,0**1-5	309 $\pm$ 25*1-6	53,1

Примечание: после * ($p < 0,05$) и ** ($p < 0,01$) указаны номера сравниваемых групп (критерий Манна – Уитни, критерий Краскела – Уоллиса); ## — $p < 0,01$ (критерий Фишера).

Note: the numbers after * ($p < 0,05$) and ** ($p < 0,01$) indicate the compared groups (according to Kruskal — Wallis and Wilcoxon — Mann — Whitney), # — $p < 0,05$ (according to Fischer).

25 мг/кг — 30% ($p < 0,01$), 50 мг/кг — 30% ($p < 0,01$), 100 мг/кг — 40% ($p < 0,01$) против 0% контроля. Следует отметить, что при использовании МЗ в дозе 100 мг/кг данный показатель статистически значимо превышал таковое значение трамадола (40% против 10%).

Полученные данные свидетельствуют о выраженном обезболивающем действии соединения МЗ при однократном внутривенном введении в условиях теста термического болевого раздражения «тепловая иммерсия хвоста». Максимально выраженный эффект во всех дозах превышал пороговый уровень 50%, оказался сравнимым/или превосходил (25 мг/кг, 100 мг/кг) по ряду показателей активность трамадола.

Тест Рендалла–Селитто основан на спинном рефлексе отдергивания конечности, комплекса супраспинальных двигательных реакций животного, направленного на освобождение конечности и вокализацию [1, 8]. Величина болевого порога, фиксируемая по силе давления на лапу, при которой животное пытается освободить конечность, через 1 ч после введения растворителя в контроле составляла в первые сутки наблюдения 160,2 $\pm$ 27,8 г, на третьи сутки — 284,0 $\pm$ 65,7 г (табл. 3). Отмечалось повышение латентного времени наступления

болевой реакции от 3,0 $\pm$ 0,6 сек (1 сут) до 5,6 $\pm$ 1,4 сек (3 сут) и числа животных с максимальной экспозицией от 0 до 9,1%. Изменение исследуемых показателей контроля характерно для этой экспериментальной модели при повторном тестировании животных.

Порог болевой чувствительности референс-препарата трамадола оказался сопоставим как при однократном, так и при трёхкратном введении и статистически значимым относительно соответствующих показателей контроля (табл. 3). Следует отметить увеличение в 1 сут наблюдения показателя времени болевого ответа в 4,1 раза ($p < 0,01$), числа мышей без болевой реакции — до 70% ($p < 0,01$) относительно аналогичных значений контроля. Сходная картина фиксировалась через 3 сут введения в группе трамадола: латентное время болевого ответа увеличилось в 1,9 раза ($p < 0,05$) относительно соответствующего значения контроля, а число мышей с максимальной экспозицией составило 50% ($p < 0,01$) против 0% в контроле (табл. 3).

Статистически значимое повышение порога болевого ответа в первый срок наблюдения отмечалось во всех группах применения соединения МЗ: 25 мг/кг — в 2,9 раза ($p < 0,05$),

Таблица 3. Анальгетический эффект вещества М3 при однократном и курсовом (3 сут) внутримышечном введении в диапазоне доз 25–200 мг/кг в сравнении с трамадолом (10 мг/кг per os) в тесте «механической компрессии» лапы (тест Рендалла – Селитто) у аутобредных мышей-самцов CD1
Table 3. Analgesic activity of M3 after a single and a course (3 days) application in the dose range of 25, 50, 100 and 200 mg/kg per os in comparison with tramadol in a mechanical compression paw test (Rendal Selitto) in outbred CD1 male mice

Группа наблюдения, доза (количество животных)	1-е сутки				3-и сутки			
	Сила воздействия на лапу (болевого порог) (X±m), г	Латентное время наступления реакции (X±m), сек	Шкала (X±m), ед.	Число мышей без проявления болевой реакции в течение 15 сек, %	Сила воздействия на лапу (болевого порог) (X±m), г	Латентное время наступления реакции (X±m), сек	Шкала (X±m), ед.	Число мышей без проявления болевой реакции в течение 15 сек, %
1. Контроль, вода (n=9)	160,2±27,8	3,0±0,6	5,3±0,9	0	284,0±65,7	5,6±1,4	9,5±2,3	9,1
2. Трамадол 10 мг/кг (n=8)	566,0±68,7 [^]	12,2±1,6 [^]	20,3±2,6 [^]	70 ^{##1-2}	526,0±76,1 [^]	10,9±1,6 [^]	18,1±2,7 [^]	50 ^{##1-2}
3. М3, 25 мг/кг (n=9)	470,0±91,8 [^]	10,0±2,1 [^]	16,8±3,4 [^]	60 ^{##1-3}	556,0±71,8 [^]	12,0±1,6 [^]	19,9±2,7 [^]	70 ^{##1-3}
4. М3, 50 мг/кг (n=8)	544,4±61,9 [^]	11,4±1,4 [^]	19,0±2,3 [^]	50 ^{##1-4}	605,0±56,9 [^]	13,2±1,3 [^]	22,0±2,1 [^]	80 ^{##1-4}
5. М3, 100 мг/кг (n=9)	497,5±77,3 [^]	10,8±1,8 [^]	18,0±3,0 [^]	60 ^{##1-5}	677,0±7,5 [^]	14,9±0,1 [^]	24,7±0,3 [^]	90 ^{##1-5, ##2-5}
6. М3, 200 мг/кг (n=9)	625,4±62,5 [^]	13,6±1,4 [^]	22,7±2,3 [^]	90 ^{##1-6, ##4-6}	635,0±36,7 [^]	13,8±0,8 [^]	22,9±1,4 [^]	80 ^{##1-6}

Примечание: # — $p < 0,05$, ## — $p < 0,01$ (критерий Фишера), статистически значимые отличия ($p < 0,05$); [^] — с контролем, + — с трамадолом (two-way ANOVA).
Note: # — $p < 0,05$; ## — $p < 0,01$ (according to Fischer), statistically significant differences ($p < 0,05$); [^] — with control, + — with tramadol (two-way ANOVA).

50 мг/кг — в 3,4 раза, 100 мг/кг — 3,1 раза, 200 мг/кг — 3,9 раза по сравнению с аналогичным значением контроля. Кроме того, фиксировалось увеличение латентного времени развития болевой реакции во всех исследуемых группах: 25 мг/кг — в 3,3 раза ($p<0,01$), 50 мг/кг — в 3,8 раза ($p<0,01$), 100 мг/кг — в 3,6 раза ($p<0,01$), 200 мг/кг — в 4,5 раза ($p<0,01$) относительно соответствующего значения контроля. При этом число мышей без проявления болевой реакции составило 60% (25 мг/кг, $p<0,01$), 50% (50 мг/кг, $p<0,01$), 60% (100 мг/кг, $p<0,01$), 90% (25 мг/кг, $p<0,01$) против 0% в контроле (табл. 3). Следует отметить отсутствие статистически значимых различий с аналогичными значениями группы трамадола, что свидетельствует о сопоставимости обезболивающей активности соединения и анальгетика с опиоидным компонентом механизма действия.

Курсовое в течение 3 дней ежесуточное введение соединения во всех дозах (25–200 мг/кг) *per os* приводило к выраженному антиноцицептивному действию, о чём свидетельствуют изученные показатели. Отмечалось увеличение порога болевой чувствительности: 25 мг/кг — в 2,0 раза ($p<0,01$), 50 мг/кг — в 2,1 раза ($p<0,01$), 100 мг/кг — в 2,4 раза ($p<0,01$), 200 мг/кг — в 2,2 раза ($p<0,01$) по сравнению с аналогичным значением контроля. Анализ латентного времени развития болевого ответа позволил выявить сходную направленность эффекта, т. к. фиксировалось увеличение данного показателя относительно соответствующего значения контроля в этом периоде наблюдения: 25 мг/кг — в 1,9 раза ($p<0,01$), 50 мг/кг — в 2,1 раза ($p<0,01$), 100 мг/кг — в 2,7 раза ($p<0,01$), 200 мг/кг — в 2,5 раза ($p<0,01$). Количество мышей без проявления болевой реакции составило 70% (25 мг/кг, $p<0,01$), 80% (50 мг/кг, $p<0,01$), 90% (100 мг/кг, $p<0,01$), 80% (200 мг/кг, $p<0,01$) против 9,1% контрольных животных. Отсутствовала статистически зна-

чимая разница между всеми показателями групп применения МЗ в дозах 25, 50 и 200 мг/кг и значениями группы трамадола в этот срок наблюдения (табл. 3). Выявлена преимущественная активность соединения в дозе 100 мг/кг по сравнению с трамадолом, заключающаяся в повышении латентного времени наступления болевой реакции в 1,4 раза ($p<0,05$) и увеличении числа мышей с максимальной экспозицией до 90% ($p<0,01$).

Таким образом, в результате исследования анальгетической активности вещества МЗ в тесте «механической компрессии лапы» у аутбредных мышей-самцов CD1 при однократном и трёхдневном применении продемонстрирована антиноцицептивная активность, превосходящая в дозе 100 мг/кг при трёхсуточном применении эффект референс-препарата трамадола.

Обсуждение результатов

Изучение спектра антиноцицептивных характеристик впервые синтезированного вещества 4-(3,4-дибромтиофенилкарбонил)-10-(2-этоксиацетил)-2, 6, 8, 12-тетраацетил-2, 4, 6, 8, 10, 12-гексаазатетрацикло[5, 5, 0, 0^{3,11}, 0^{5,9}]додекана (МЗ) на основе гексаазаизовюрцитана было проведено в батарее современных поведенческих тестов, моделирующих соматическую боль у животных с использованием механической компрессии лапы, термического воздействия и химического болевого раздражения брюшины [1, 8, 13]. Данная методология тестирования вещества на различных моделях, отличающихся по характеру воздействия и типу ответной реакции, позволяет сделать заключение о возможном механизме действия потенциального анальгетика. Исходя из патогенеза болевого состояния при химическом раздражении брюшины, можно сделать вывод о реализации антиноцицептивного действия МЗ на периферическом уровне, вероятно, как через ингибирование синтеза простагландинов, так и через активацию

опиоидергической системы [8, 9, 13]. С другой стороны, представленные результаты теста «механической компрессии» свидетельствуют о том, что высокая анальгетическая активность МЗ реализуется не только на периферическом, но и на супраспинальном уровнях организации болевой чувствительности. Вместе с тем выраженное антиноцицептивное действие вещества МЗ в тесте «тепловой иммерсии» хвоста, в генезе боли которого отсутствует активация терморепрецепторов, может реализоваться на спинальном уровне за счёт снижения возбуждения С- и Аδ-волокон полимодальных ноцицепторов, высокопороговых механорецепторов [8, 9, 13]. Полученные результаты свидетельствуют в пользу мультитаргетного механизма анальгезии новой молекулы, что определяет целесообразность дальнейшего исследования фармакодинамики и особенностей антиноцицептивной активности.

Выводы

Впервые синтезированное соединение 4-(3,4-дибромтиофенилкарбонил)-10-(2-

этоксияцетил)-2, 6, 8, 12-тетраацетил-2, 4, 6, 8, 10, 12-гексаазатетрацикло[5, 5, 0, 0^{3,11}, 0^{5,9}] додекан (МЗ) при введении животным в желудок в диапазоне доз 25–200 мг/кг оказывает выраженное анальгетическое действие даже при однократном введении, сопоставимое и/или превосходящее эффекты трамадола на моделях различных ноцицептивных реакций. На основании полученных результатов можно заключить, что анальгетическое действие вещества может реализоваться за счёт ингибирующего влияния на периферические и центральные механизмы развития болевого синдрома.

Продемонстрированные результаты исследования антиноцицептивной активности нового малотоксичного вещества из класса гексаазаизовюрцитанов свидетельствуют о его высокой эффективности, что обуславливает целесообразность расширенного доклинического исследования и является доказательством возможности синтеза оригинальных низкотоксичных фармакологически активных молекул на основе высокоэнергетического вещества.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Воронина Т.А., Гузевых Л.С. Методические рекомендации по изучению анальгетической активности лекарственных средств. *Рук-во по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Под ред. А.Н. Миронова. Ч. 1. М., 2012:199–207. [Voronina T.A., Guzevatykh L.S. Metodicheskie rekomendatsii po izucheniyu anal'geticheskoy aktivnosti lekarstvennykh sredstv [Guidelines for the study of analgesic activity of drugs]. *Ruk-vo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv* [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs]. Ed. A.N. Mironov. Part 1. Moscow; 2012:199–207. (In Russian)].
2. Крылова С.Г., Поветьева Т.Н., Лопатина К.А., Нестерова Ю.В., Зуева Е.П., Афанасьева О.Г., Киселева Е.А., Кульпин П.В., Суслов Н.И., Кулагина Д.А., Сысолятин С.В., Жданов В.В. Риск развития лекарственной зависимости при применении нового анальгетика на основе производного гексаазаизовюрцитана (экспериментальное исследование). *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(1): 54–62. [Krylova S.G., Povetyeva T.N., Lopatina K.A., Nesterova Yu.V., Zueva E.P., Afanasyeva O.G., Kiseleva E.A., Kulpin P.V., Suslov N.I., Kulagina D.A., Sysolyatin S.V., Zhdanov V.V. Risk razvitiya lekarstvennoy zavisimosti pri primenenii novogo anal'getika na osnove proizvodnogo geksazaizovyurtzitana (eksperimental'noe issledovanie) [Risk of developing drug abuse in administration of a new hexaazaizovurtzitan derivative-based analgesic (experimental study)]. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):54–62. (In Russian)]. DOI: 10.20538/1682-0363-2022-1-54-62.
3. Лакин Г.Ф. *Биометрия*. Учебное пособие для биологических специальных вузов. 4-изд., перераб. и доп. М.: Высшая школа, 1990. [Lakin G.F. *Biometrics*. Textbook for biological special universities. 4th ed., revised. Moscow: Vysshaya shkola Publ., 1990. (In Russian)].
4. Лемешко Б.Ю., Лемешко С.Б. Об устойчивости и мощности критерия проверки однородности средних. *Измерительная техника*. 2008;9:23–28. [Lemeshko B.Yu., Lemeshko S.B. Ob ustoychivosti i moshchnosti kriteriev proverki odnorodnosti srednikh [On the stability and power of criteria for checking the homogeneity of means]. *Izmeritel'naya*

- tehnika [Measuring technology]. 2008;9:23–28. (In Russian)].
5. Палехов А.В., Введенская Е.С. Опиоидные анальгетики, проблемы сегодняшнего дня и поиск путей их решения. *Российский журнал боли*. 2017;3–4(54):89–94. [Palekhov A.V., Vvedenskaya E.S. Opioidnye anal'getiki, problemy segodnyashnego dnya i poisk putey ikh resheniya [Opioid analgesics, problems of today and the search for ways to solve them]. *Rossiyskiy zhurnal boli* [Russian Journal of Pain]. 2017;3–4(54):89–94. (In Russian)].
 6. Соснов А.В., Садовников С.В., Семченко Ф.М., Руфанов К.А., Тохмахчи В.Н., Соснова А.А., Тюрин И.А. Сильнодействующие ненаркотические анальгетики как направление развития фармацевтики. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2016;1:196–206. [Sosnov A.V., Sadovnikov S.V., Semchenko F.M., Rufanov K.A., Tokhmakhchi V.N., Sosnova A.A., Tyurin I.A. Sil'nodeystvuyushchie nenarkoticheskie anal'getiki kak napravlenie razvitiya farmatsevtiki [Potent non-narcotic analgesics as a direction of pharmaceutical development]. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv* [Drug development & registration]. 2016;1:196–206. (In Russian)].
 7. Agüero S., Megy S., Eremina V.V., Kalashnikov A.I., Krylova S.G., Kulagina D.A., Lopatina K.A., Fournier M., Povet'eva T.N., Vorozhtsov A.B., Sysolyatin S.V., Zhdanov V.V., Terreux R. Discovery of a novel non-narcotic analgesic derived from the CL-20 explosive: Synthesis, pharmacology, and target identification of thiowurtzine, a potent inhibitor of the opioid receptors and the ion channels. *ACS Omega*. 2021;6(23):15400–15411. DOI: 10.1021/acsomega.1c01786.
 8. Barrot M. Tests and models of nociception and pain in rodents. *Neuroscience*. 2012;211:39–50. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2011.12.041.
 9. Katzung B.G. Basic & clinical pharmacology, 14th ed. *McGraw-Hill Education*, 2018:409–438.
 10. Krylova S.G., Lopatina K.A., Nesterova Yu.V., Povet'eva T.N., Kul'pin P.V., Afanas'eva O.G., Kulagina D.A., Safonova E.A., Zueva E.P., Suslov N.I., Sysolyatin S.V. Some aspects of investigation of the central mechanism of antinociceptive effect of a new analgetic from the hexaazaisowurtzitan group. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2021;170(6):752–758. DOI: 10.1007/s10517-021-05148-w.
 11. Nijis J., George S.Z., Clauw D.J., Fernández-de-las-Peñas C., Kosek E., Ickmans K., Fernández-Carnero J., Polli A., Kapreli E., Huysmans E., Cuesta-Vargas A.I., Mani R., Lundberg M., Leysen L., Rice D., Sterling M., Curatolo M. Central sensitisation in chronic pain conditions: Latest discoveries and their potential for precision medicine. *Lancet Rheumatol*. 2021;3(5):e383–e392. DOI: 10.1016/S2665-9913(21)00032-1.
 11. Sysolyatin S.V., Lobanova A.A., Chernikova Yu.T., Sakovich G.V. Methods of synthesis and properties of hexanitrohexaazaisowurtzitan. *Russ. Chem. Rev.* 2005;74(8):757–764. DOI: 10.1070/RC2005v074n08ABEH001179.
 12. Turner P.V., Turner D.S., Pang J.L., Lofgren A. Review of pain assessment methods in laboratory rodents. *Comp. Med.* 2019;69(6):451–467. DOI: 10.30802/AALAS-CM-19-000042.
 13. Yam M.F., Loh Y.C., Tan C.S., Khadijah Adam S., Abdul Manan N., Basir R. General pathways of pain sensation and the major neurotransmitters involved in pain regulation. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(8):2164. DOI: 10.3390/ijms19082164.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Киселёва Елена Александровна, Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»;

e-mail: elena_kis@sibmail.com

Крылова Светлана Геннадьевна*, д.б.н., Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»;

e-mail: krylova5935@gmail.com

Elena A. Kiseleva, Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences;

e-mail: elena_kis@sibmail.com

Svetlana G. Krylova*, Dr. Sci. (Biol.), Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences;

e-mail: krylova5935@gmail.com

Поветьева Татьяна Николаевна, д.б.н., Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»;

e-mail: ptn@bk.ru

Нестерова Юлия Владимировна, к.м.н., Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»;

e-mail: nes-yuliya@yandex.ru

Афанасьева Ольга Геннадьевна, к.б.н., Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»;

e-mail: olgaafanasjeva@mail.ru

Кульпин Павел Валерьевич, Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»;

e-mail: pavellevap@inbox.ru

Кулагина Дарья Александровна, к.х.н., ФГБУН Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения РАН;

e-mail: imbiri@rambler.ru

Зуева Елена Петровна, д.б.н., проф., Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»;

e-mail: zep0929@mail.ru

Суслов Николай Иннокентьевич, д.м.н., проф., Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»;

e-mail: nis-51@mail.ru

Ерёмина Валерия Валерьевна, к.б.н., ФГБУН Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения РАН;

e-mail: evv@ipcet.ru

Tatyana N. Povet'eva, Dr. Sci. (Biol.), Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences;

e-mail: ptn@bk.ru

Yuliya V. Nesterova, Cand. Sci. (Med.), Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences;

e-mail: nes-yuliya@yandex.ru

Olga G. Afanas'eva, Cand. Sci. (Biol.), Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences;

e-mail: olgaafanasjeva@mail.ru

Pavel V. Kul'pin, Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences;

e-mail: pavellevap@inbox.ru

Daria A. Kulagina, Cand. Sci. (Chem.), Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies of the Siberian Branch of Russian Academy of Sciences;

e-mail: imbiri@rambler.ru

Elena P. Zueva, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences;

e-mail: zep0929@mail.ru

Nikolay I. Suslov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences;

e-mail: nis-51@mail.ru

Valeria V. Eremina, Cand. Sci. (Biol.), Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies of the Siberian Branch of Russian Academy of Sciences;

e-mail: evv@ipcet.ru

Байбакова Ольга Владимировна, к.т.н.,
ФГБУН Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения РАН;
[e-mail: olka_baibakova@mail.ru](mailto:olka_baibakova@mail.ru)

Сысолятин Сергей Викторович, д.х.н., проф.,
член-корр. РАН, ФГБУН Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения РАН;
[e-mail: admin@ipcet.ru](mailto:admin@ipcet.ru)

Жданов Вадим Вадимович, д.м.н., проф., член-корр. РАН, Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»;
[e-mail: zhdanov_vv@pharmso.ru](mailto:zhdanov_vv@pharmso.ru)

Olga V. Baibakova, Cand. Sci. (Tech.), Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies of the Siberian Branch of Russian Academy of Sciences;

[e-mail: olka_baibakova@mail.ru](mailto:olka_baibakova@mail.ru)

Sergey V. Sysolyatin, Dr. Sci. (Chem.), Prof., Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies of the Siberian Branch of Russian Academy of Sciences;

[e-mail: admin@ipcet.ru](mailto:admin@ipcet.ru)

Vadim V. Zhdanov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences;

[e-mail: zhdanov_vv@pharmso.ru](mailto:zhdanov_vv@pharmso.ru)

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author