

Е. Ю. Бибик<sup>1</sup>, О. Г. Ярошевская<sup>1</sup>, А. В. Девдера<sup>1</sup>, А. В. Деменко<sup>1</sup>, В. В. Захаров<sup>1</sup>,  
К. А. Фролов<sup>1, 2</sup>, В. В. Доценко<sup>2, 3</sup>, С. Г. Кривоколыско<sup>1, 2</sup>

## ПОИСК СРЕДСТВ С ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ СРЕДИ ПРОИЗВОДНЫХ ТЕТРАГИДРОПИРИДО[2,1-*b*][1,3,5]ТИАДИАЗИНА

<sup>1</sup> ГУ "Луганский государственный медицинский университет", Луганск; e-mail: perlen77@mail.ru

<sup>2</sup> ГОУ ВПО "Луганский государственный университет им. Владимира Даля", НИЛ "Химэкс", Луганск; e-mail: ksg-group-lugansk@mail.ru

<sup>3</sup> ФГБОУ ВПО "Кубанский государственный университет", Россия, Краснодар; e-mail: victor\_dotsenko\_@mail.ru

Проведены исследования противовоспалительной активности производных тетрагидропиридо[2,1-*b*][1,3,5]тиадиазина на модели "формалинового отека" конечностей белых беспородных крыс в сравнении с диклофенаком натрия. Обнаружены соединения с выраженной противовоспалительной активностью, превышающей в 1,5 – 3,5 раза активность диклофенака натрия.

**Ключевые слова:** противовоспалительная активность; формалиновый отек; производные тетрагидропиридо[2,1-*b*][1,3,5]тиадиазина.

Воспалительный процесс является ведущим патогенетическим звеном многих заболеваний, которые составляют около 80 % всей патологии в практике врача любой специальности. Согласно мировой статистике, нестероидные противовоспалительные средства ежедневно в мире принимает более 30 млн человек, причем лишь 10 млн пациентов по назначению врача, а остальные — в качестве безрецептурных препаратов [1 – 3].

В настоящее время основные направления фармакологической коррекции воспаления могут включать ингибирование ферментов (фосфолипаза А<sub>2</sub>, ЦОГ, липоксигеназа, 5-ЛОГ активирующий протеин); блокаду лейкотриеновых рецепторов; изменение синтеза эйкозаноидов ω-3-полиненасыщенными жирными кислотами, что способствует образованию менее активных медиаторов; блокаду рецепторов фактора активации тромбоцитов [4, 5]. Среди существующих ныне лекарственных средств нестероидного происхождения наиболее мощной противовоспалительной активностью обладают индометацин (Indomethacinum) и натрия диклофенак (Natrium diclofenac). Однако вызываемая ими гастропатия в ряде случаев ограничивает длительное их применение.

Именно поэтому на сегодняшний день остро стоит вопрос разработки, исследования и введения в клиническую практику новых эффективных, безопасных и экономически доступных противовоспалительных препаратов нового поколения.

1,3,5-Тиадиазины (ТД) представляют собой перспективный класс гетероциклических соединений. Спектр практически важных свойств наиболее изученных их производных весьма широк и включает в себя антифибринолитическую, противотуберкулезную, фунгицидную и бактерицидную, антигельминтную, противоопухолевую и антираковую, гипергликемическую и другие виды активности [6].

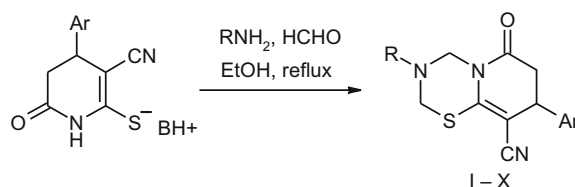
Вопросы практического использования конденсированных производных 1,3,5-тиадиазина изучены в заметно меньшей степени.

Недавно обнаружено, что пиридо[2,1-*b*][1,3,5]тиадиазины могут выступать эффективными ингибиторами репликации клещевых флавивирусов, при этом в испытаниях *in vivo* (на мышах) они проявили низкую общую токсичность [7].

В продолжение наших исследований представляло интерес провести изучение противовоспалительной активности группы производных тетрагидропиридо[2,1-*b*][1,3,5]тиадиазина.

### Экспериментальная химическая часть

Отобраны (8R/8S)-3-R-8-арил-6-оксо-3,4,7,8-тетрагидро-2*H*,6*H*-пиридо[2,1-*b*][1,3,5]тиадиазин-9-карбонитрилы (**I** – **X**), ранее синтезированные нами по некатализируемой реакции Манниха замещенные тетрагидропиридин-2-тиолатов *N*-метилморфолина с первичными аминами и избытком формальдегида [8, 9].



B=N-метилморфолин; Ar=3-MeO-4-EtOC<sub>6</sub>H<sub>3</sub>, R=4-FC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (**I**); 2-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>O, 2-EtOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (**II**); 4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, cyclohexyl (**III**); 2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 3-Cl-4-MeC<sub>6</sub>H<sub>3</sub> (**IV**); 2,4,5-(MeO)<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>, 2-furfuryl (**V**); 3,4-(MeO)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>, 2-Me-3-Cl-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub> (**VI**); 3,4,5-(MeO)<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>, benzyl (**VII**); 3-MeO-4-EtOC<sub>6</sub>H<sub>3</sub>, 4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (**VIII**); 3-MeO-4-EtOC<sub>6</sub>H<sub>3</sub>, 2-FC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (**IX**); 2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 2-EtC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (**X**).

### Экспериментальная биологическая часть

Исследования проводились на 78 белых беспородных половозрелых крысах обоего пола массой 230 – 270 г в осенне-зимний период в сертифициро-

ванной фармакологической лаборатории ГУ “Луганский государственный медицинский университет” (свидетельство № РБ 105/2008 от 30.12.2011 г.).

Животные в течение всего срока исследования содержались в условиях вивария на стандартном рационе, не более 6 особей в клетке, в соответствии с правилами работы с лабораторными животными. Условия содержания животных и манипуляции, проводившиеся с ними, соответствовали требованиям, содержащимся в методических рекомендациях по этической экспертизе биомедицинских исследований [10]. Перед началом эксперимента все животные тщательно осмотрены, учитывались их масса, возраст, двигательная активность и состояние шерстного покрова. Крысы распределены на группы (по 6 животных в каждой): интактную, контрольную (“формалиновый отек”), группу сравнения (натрия диклофенак) и 10 подопытных

групп по количеству исследуемых оригинальных производных тетрагидропиридо[2,1-*b*][1,3,5]тиадиазина.

Определение противовоспалительной активности проводилось на модели острого “формалинового отека” левой лапы, который моделировали субплантарным введением 0,1 мл 2 % раствора формалина [11]. Исследуемые соединения вводили в дозе 5 мг/кг внутривенно за 1 ч до индукции отека. Животные контрольной группы в эквивалентном количестве получали 0,9 % раствор хлорида натрия. В качестве препарата сравнения использовали натрия диклофенак внутривенно в дозе 5 мг/кг. Противовоспалительный эффект оценивали через 3 ч после индукции воспаления по изменению размеров конечности (инструментально). Изменение размеров — ширины лапы и ее обхват в самом широком месте — выражали в процентах к показателям симметричной конечности.

Таблица 1

**Противовоспалительная активность производных тетрагидропиридо[2,1-*b*][1,3,5]тиадиазина**

Соединение	Ширина лапы у крыс, мм, после формирования формалинового отека				
	правая лапа	левая лапа	$P_1$	$P_k$	изменение, %
Раствор 0,9 % NaCl	13,67 ± 0,61	17,00 ± 0,71	< 0,05	–	24,36
Диклофенак натрия	13,08 ± 0,97	14,25 ± 0,88	< 0,06	< 0,01	8,94
I	12,17 ± 1,17	14,17 ± 2,14	< 0,08	< 0,01	16,43
II	13,50 ± 0,55	16,67 ± 2,18	< 0,01	< 0,8	23,48
III	12,83 ± 0,75	17,50 ± 1,52	< 0,001	< 0,5	36,39
IV	13,17 ± 0,75	14,92 ± 0,49	< 0,001	< 0,01	13,28
V	13,67 ± 0,52	16,08 ± 1,02	< 0,001	< 0,2	17,62
VI	13,75 ± 1,21	16,42 ± 1,43	< 0,01	< 0,4	19,41
VII	13,33 ± 1,29	14,42 ± 1,28	< 0,2	< 0,001	8,17
VIII	13,08 ± 0,86	14,08 ± 0,49	< 0,04	< 0,001	7,64
IX	14,00 ± 0,45	15,25 ± 1,41	< 0,07	< 0,03	8,92
X	13,25 ± 0,76	14,41 ± 0,58	< 0,02	< 0,001	8,75

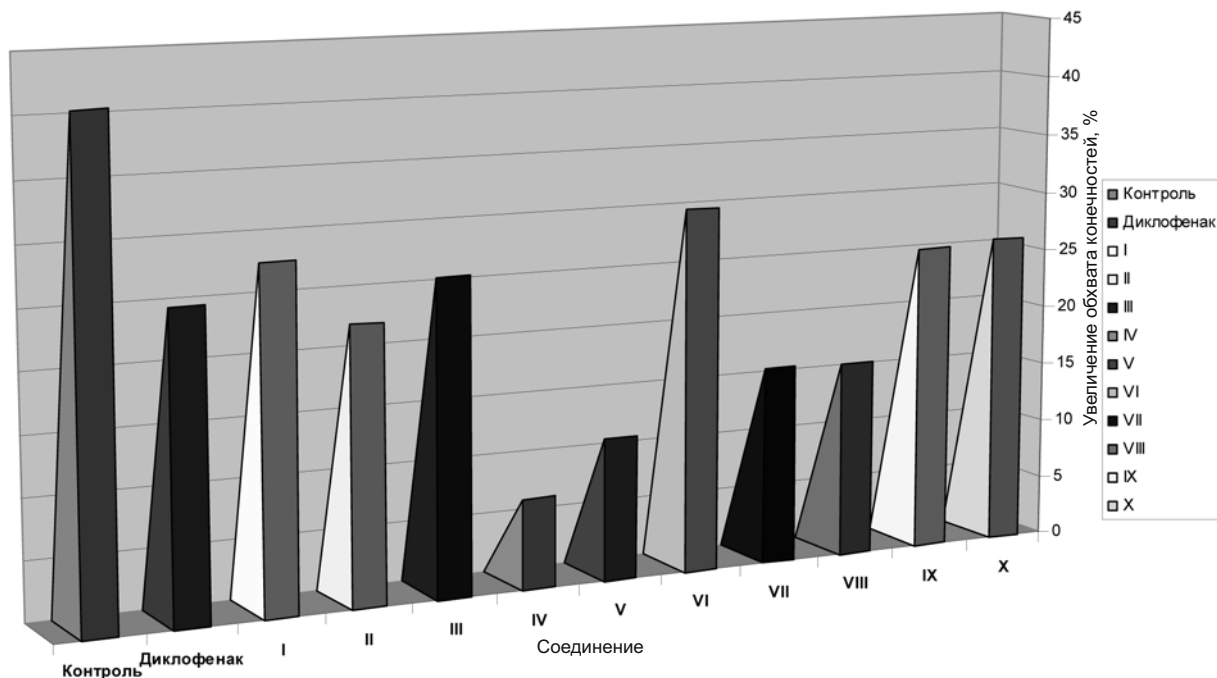
По сравнению:  $p_1$  — между опытной и интактной группой,  $p_k$  — между опытной и контрольной группой.

Таблица 2

**Противовоспалительная активность производных тетрагидропиридо[2,1-*b*][1,3,5]тиадиазина**

Соединение	Обхват лапы у крыс, мм, после формирования формалинового отека				
	правая лапа	левая лапа	$P_1$	$P_k$	изменение, %
Раствор 0,9 % NaCl	26,16 ± 1,29	37,00 ± 1,04	< 0,001	-	41,43
Натрия диклофенак	27,50 ± 1,76	34,50 ± 2,88	< 0,001	< 0,08	25,45
I	27,83 ± 0,75	35,75 ± 1,47	< 0,001	< 0,2	28,46
II	26,00 ± 0,89	32,00 ± 1,58	< 0,001	< 0,001	23,08
III	27,17 ± 1,47	34,33 ± 1,60	< 0,001	< 0,1	26,35
IV	27,33 ± 1,03	29,41 ± 1,28	< 0,02	< 0,001	7,61
V	30,00 ± 0,89	33,58 ± 0,38	< 0,001	< 0,001	11,93
VI	25,42 ± 1,80	33,17 ± 2,16	< 0,001	< 0,005	30,49
VII	25,92 ± 1,36	30,25 ± 1,47	< 0,001	< 0,001	16,71
VIII	25,25 ± 1,51	29,42 ± 1,69	< 0,005	< 0,001	16,51
IX	25,67 ± 2,14	32,3 ± 1,60	< 0,001	< 0,001	25,83
X	26,08 ± 1,11	32,92 ± 1,39	< 0,001	< 0,001	26,23

По сравнению:  $p_1$  — между опытной и интактной группой,  $p_k$  — между опытной и контрольной группой.



Выраженность формалинового отека у крыс различных групп.

Первичные данные эксперимента показали нормальность распределения в исследуемых выборках значений. Выборки оценивались как непрерывные, достаточные по вариативности признака. Для определения достоверности различий использовался *t*-критерий Стьюдента [12].

У крыс интактной группы размеры правой и левой передних конечностей не отличались. Субплантарное введение формалина животным контрольной группы привело к формированию выраженного отека лапы. Так, ширина левой лапы через 3 ч после введения раствора формалина была больше ширины правой лапы на 24,36 % (табл. 1). Обхват левой лапы крыс контрольной группы превосходил таковой для правой лапы на 41,43 % (табл. 2).

Ширина левой лапы у подопытных крыс из группы сравнения, получавших диклофенак натрия за 1 ч до моделирования формалинового отека, превышала ширину правой лапы на 8,94 %. В объёме же левая лапа крыс этой группы была больше симметричной на 25,45 %.

Анализ результатов экспериментального исследования показал, что среди производных тетрагидропиридо[2,1-*b*][1,3,5]тиадиазина есть соединения с выраженной противовоспалительной активностью. Так, ширина конечностей крыс подопытных групп, получавших соединения VII, VIII, IX и X, на фоне субплантарного введения флогогенного фактора увеличилась на 7,64 – 8,92 % в сравнении с шириной симметричной конечности. Эти оригинальные вещества обладают аналогичной натрия диклофенаку противовоспалительной активностью в отношении показателей размеров лапы с формалиновым отеком. Кроме того, введение соединения IV крысам подопытной

группы за 1 ч до моделирования формалинового отека привело к увеличению ширины левой лапы на 13,28 % в сравнении с симметричной конечностью.

Соединения I и V, введенные подопытным животным до введения флогогенного фактора, показали средней степени выраженности противовоспалительную активность по показателям ширины конечности.

При сравнении показателей объёма левой лапы у крыс подопытных групп (табл. 2), отмечается значительно выраженная противовоспалительная активность IV, которая превосходит таковую у натрия диклофенака почти в 3,5 раза.

Также высокую противовоспалительную активность показало соединение V (рисунок). Прирост показателя объёма конечностей крыс этой подопытной группы составил 11,93 %, что в 2,13 раза меньше, чем у крыс группы сравнения.

Изменения показателя объёма конечностей крыс подопытных групп, получавших VII и VIII, были на одинаковом уровне, но значительно (более чем в 1,5 раза) меньше, чем в группе крыс, получавших диклофенак натрия. Соединения III, IX и X оказывали аналогичное натрия диклофенаку противовоспалительное действие.

Таким образом, среди исследуемых производных тетрагидропиридо[2,1-*b*][1,3,5]тиадиазина обнаружены соединения с выраженной противовоспалительной активностью. Соединения IV (3-(4-метил-3-хлорфенил)-8-(2-метоксифенил)-6-оксо-3,4,7,8-тетрагидро-2*H*,6*H*-пиридо[2,1-*b*][1,3,5]тиадиазин-9-карбонитрил) и V (8-(2,4,5-триметоксифенил)-6-оксо-3-(2-фурилметил)-3,4,7,8-тетрагидро-2*H*,6*H*-пиридо[2,1-*b*][1,3,5]тиадиазин-9-карбонитрил) показали наилучшие результаты,

превосходящие по противовоспалительной активности натрия диклофенак в 3,5 и 2,13 раза, соответственно.

Полученные результаты могут свидетельствовать о перспективности дальнейших доклинических исследований производных тетрагидропиридо[2,1-*b*][1,3,5]тиадиазины с целью создания новых противовоспалительных препаратов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Е. Л. Насонов, *Рус. мед. ж.*, **10**(4), 206 – 213 (2002).
2. А. А. Шептулин, *Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.*, № 6, 15 – 19 (2006).
3. А. Е. Карагеев, Н. Н. Яхно, Л. Б. Лазебник и др., *Применение нестероидных противовоспалительных препаратов*, ИМА-Пресса, Москва (2009), сс. 10 – 25.
4. М. Е. Ostensen, J. F. Skomsvoll, *Expert Opin Pharmacother*, **5**(3), 571 – 580 (2004).
5. Ю. Д. Игнагов, В. Г. Кулес, В. И. Мазуров, *Клиническая фармакология нестероидных противовоспалительных средств*, ГЭОТАР-Медиа, Москва (2010).
6. В. В. Доценко, К. А. Фролов, С. Г. Кривоколыско, *Химия гетероцикл. соедин.*, **51**(2), 109 – 127 (2015).
7. D. I. Osolodkin, L. I. Kozlovskaya, E. V. Dueva, et al., *ACS Med. Chem. Let.*, **4**, 869 – 874 (2013).
8. V. V. Dotsenko, K. A. Frolov, T. M. Pekhtereva, et al., *ACS Comb. Sci.*, **16**, 543 – 550 (2014).
9. В. В. Доценко, С. Г. Кривоколыско, А. Н. Чернега, В. П. Литвинов, *Доклады АН*, **389**(6), 763 – 767 (2003).
10. Н. Н. Каркищенко, С. В. Грачев, *Альтернативы биомедицины. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях*, Профиль, Москва (2010).
11. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, часть 1, Миронов А. Н. (ред.), Министерство здравоохранения и социального развития РФ, ФГБУ “Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Москва (2012).
12. А. И. Кобзарь, *Прикладная математическая статистика*, Физматлит, Москва (2006).

Поступила 11.11.15

## SEARCH FOR NEW ANTI-INFLAMMATORY AGENTS IN TETRAHYDROPYRIDO[2,1-*b*][1,3,5]THIADIAZINE SERIES

E. Yu. Bibik<sup>1</sup>, O. G. Yaroshevskaya<sup>1</sup>, A. V. Devdera<sup>1</sup>, A. V. Demenko<sup>1</sup>, V. V. Zakharov<sup>1</sup>, K. A. Frolov<sup>1,2</sup>, V. V. Dotsenko<sup>2,3\*</sup>, and S. G. Krivokolysko<sup>1,2\*\*</sup>

<sup>1</sup> Lugansk State Medical University, Lugansk, 91045 Ukraine

<sup>2</sup> ChemEx Laboratory, Vladimir Dal' Lugansk State University, Lugansk, 91034 Ukraine

<sup>3</sup> Kuban State University, Krasnodar, 350040 Russia

e-mail: \* victor dotsenko @mail.ru; \*\* ksg-group-lugansk@mail.ru

The anti-inflammatory activity of a series of tetrahydropyrido[2,1-*b*][1,3,5]thiadiazine derivatives was studied on albino rats with the formalin-induced paw edema model in comparison to diclofenac sodium. Some compounds were found to be 1.5 to 3.5 times more potent than diclofenac sodium.

**Keywords:** anti-inflammatory activity; tetrahydropyrido[2,1-*b*][1,3,5]thiadiazines; formalin edema; diclofenac sodium.