

О. Н. Гейн, Т. М. Замараева, В. Л. Гейн

ОЦЕНКА ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭТИЛ-6-АМИНО-4-АРИЛ-5-ЦИАНО-2,4-ДИГИДРОПИРАНО-[2,3-с]ПИРАЗОЛ-3-КАРБОКСИЛАТОВ

ФГБОУ ВО "Пермская государственная фармацевтическая академия" Минздрава РФ, Россия, 614990, Пермь, ул. Полевая, 2; e-mail: geinvl48@mail.ru

Исследована острая токсичность и анальгетическая активность соединений ряда этил-6-амино-4-арил-5-циано-2,4-дигидропирано[2,3-с]пиразол-3-карбоксилатов. Установлено, что изученные соединения являются практически нетоксичными и проявляют анальгетическую активность.

Ключевые слова: пиранопиразолы; этил-6-амино-4-арил-5-циано-2,4-дигидропирано-[2,3-с]пиразол-3-карбоксилаты; острая токсичность; анальгетическая активность.

Пиранопиразолы привлекают внимание исследователей как класс гетероциклических соединений с широким спектром биологической активности, среди которых найдены вещества, проявляющие противомикробное [1, 2], противогрибковое [3], противоопухолевое действие [4 – 8].

Принимая во внимание большую фармакологическую значимость производных пиранопиразолов, поиск новых биологически активных лекарственных препаратов на их основе является актуальным.

Ранее было показано, что взаимодействие натриевой соли диэтилоксалоацетата, ароматического альдегида, гидразина гидрата и малононитрила в четырехкомпонентной реакции приводит к образованию этил-6-амино-4-арил-5-циано-2,4-дигидропирано[2,3-с]-пиразол-3-карбоксилатов [9]. Синтез осуществлен по следующей схеме.

В данной работе приведены результаты изучения острой токсичности и анальгетической активности соединений I – VII.

Экспериментальная биологическая часть

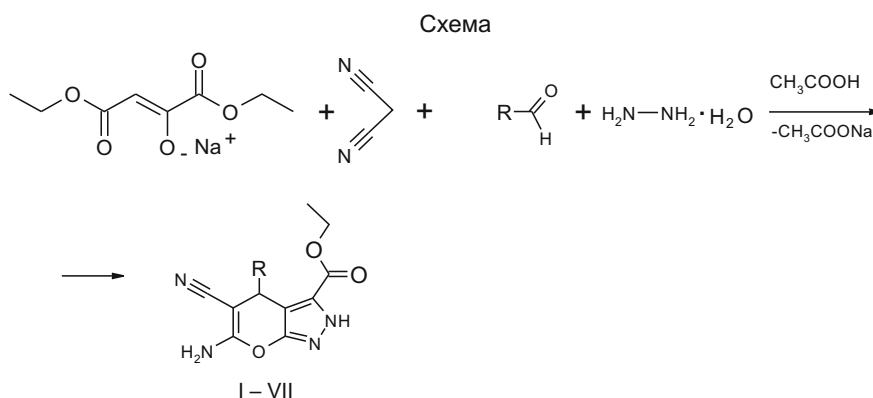
Объектом исследования явились 7 соединений — этил-6-амино-4-арил-5-циано-2,4-дигидропирано[2,3-с]-пиразол-3-карбоксилаты (I – VII), полученные нами ранее по методике [9]. Чистота соединений I – VII со-

ставляет 99,9 %, что было доказано спектральными методами анализа [9], включая элементный анализ, данные ИК и ЯМР ^1H , ^{13}C , масс-спектров, а также тонкослойной хроматографией на пластинках Silufol UV-254 в системе толуол — ацетон — этиловый спирт — раствор аммиака 25 % (45:45:7,5:2,5).

Все исследовательские работы с лабораторными животными выполняли в соответствии с общепринятыми этическими нормами обращения с животными, с соблюдением Правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований, действующих на территории РФ [10]. Исследование выполнено на 230 белых нелинейных мышах обоего пола массой 20 – 25 г.

Острую токсичность соединений I – VII изучали, используя экспресс-метод В. Б. Прозоровского [11]. Исследуемые вещества вводили внутривентриально в дозах 500, 1000, 1260, 1500 и 2000 мг/кг. Соединение VI вводили внутривентриально дополнительно в дозах 2500 и 3169 мг/кг. Результаты исследования приведены в табл. 1.

Оценку анальгетической активности соединений проводили методом термического раздражения “горячая пластинка” и методом специфической болевой реакции “укусные корчи” [10, 12]. В тесте “горячая пластинка” исследуемые вещества вводили внутривентри-



R = C₆H₅ (I), 3-CH₃OC₆H₄ (II), 4-ClC₆H₄ (III), 2-NO₂C₆H₄ (IV), 2-ClC₆H₄ (V), 4-FC₆H₄ (VI), 4-C₂H₅OC₆H₄ (VII).

шинно в дозе 50 мг/кг [13] в виде взвеси в 2 % крахмальной слизи за 60 мин до помещения животных на нагретую до 52 °С металлическую пластинку. Показателем ноцицепции служила длительность пребывания животного на “горячей пластинке” до наступления оборонительной реакции (облизывание задних лапок, потряхивания ими, подскакивания), измеряемая в секундах.

Болевую реакцию в тесте “уксусные корчи” вызывали внутрибрюшинным введением 0,75 % уксусной кислоты (из расчета 0,1 мл на 10 г массы животного) через 30 мин после внутрибрюшинного введения исследуемых соединений. В течение последующих 20 мин после инъекции уксусной кислоты подсчитывали количество “корчей” для каждого животного. Анальгетический эффект оценивали по уменьшению количества корчей в процентах к контролю.

Контрольной группе животных вводили эквивалентный объем 2 % крахмальной слизи. Препаратом сравнения служил раствор метамизола натрия (ОАО “Борисовский завод медицинских препаратов”, Беларусь) в дозе 50 мг/кг при внутрибрюшинном введении.

Полученные данные обрабатывали методами математической статистики с помощью *t*-критерия Стьюдента. Эффект считали достоверным при $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Результаты исследования острой токсичности соединений I – VII представлены в табл. 1. Как видно из таблицы, внутрибрюшинное введение животным изучаемых соединений в высоких дозах (2000 мг/кг), за

исключением соединения VI, не приводило к гибели животных. Следовательно, ЛД₅₀ указанных соединений находится в дозах, больших чем 2000 мг/кг, при внутрибрюшинном введении. Для соединения VI была определена средняя летальная доза, которая составила 2050 мг/кг (1800 – 2400 мг/кг). Исследуемые соединения по классификации Сидорова К. К. относятся к практически нетоксичным соединениям [14].

При изучении анальгетической активности исследуемых соединений методом “горячая пластинка” выявлено, что соединения V и VII достоверно увеличивают длительность пребывания животных на “горячей пластинке” до наступления оборонительной реакции по сравнению с контролем. Однако увеличение длительности латентного периода при введении указанных соединений менее выражено по сравнению с метамизолом натрия (табл. 1).

Изучение анальгетической активности соединений I – VII методом “уксусные корчи” выявило 5 активных соединений (I, III, IV, V и VII), которые уменьшали количество “корчей” по сравнению с контролем более чем на 50 % (табл. 2). Наиболее выраженное действие оказало соединение IV, при применении которого процент уменьшения “корчей” составил более чем 70 %.

В ранее проведенных исследованиях [13] была выявлена анальгетическая активность у производных 3-гидрокси-3-пирролин-2-онов в тесте “горячая пластинка”. Некоторые соединения превосходили по активности препарат сравнения — метамизол натрия [13].

Таким образом, данное исследование позволяет утверждать, что исследуемые соединения ряда этил-6-амино-4-арил-5-циано-2,4-дигидропирано[2,3-*c*]пира-

Таблица 1
Острая токсичность и анальгетическая активность соединений I – VII в тесте “горячая пластинка”

Соединение	Острая токсичность ЛД ₅₀ (внутрибрюшинно), мг/кг	Длительность латентного периода, с	<i>p</i> по сравнению с контролем
Контроль	-	13,6 ± 1,03 (<i>n</i> = 9)	-
Метамизол натрия	2900* (2160 – 3340)	20,56 ± 1,53 (<i>n</i> = 9)	< 0,01
I	> 2000 (<i>n</i> = 10)	11,8 ± 0,74 (<i>n</i> = 8)	> 0,05
II	> 2000 (<i>n</i> = 10)	14,0 ± 1,74 (<i>n</i> = 9)	> 0,05
III	> 2000 (<i>n</i> = 10)	12,4 ± 1,54 (<i>n</i> = 8)	> 0,05
IV	> 2000 (<i>n</i> = 10)	11,4 ± 0,75 (<i>n</i> = 8)	> 0,05
V	> 2000 (<i>n</i> = 10)	18,22 ± 1,84 (<i>n</i> = 9)	< 0,05
VI	2050 (1800 – 2400) (<i>n</i> = 12)	13,8 ± 3,09 (<i>n</i> = 9)	> 0,05
VII	> 2000 (<i>n</i> = 10)	18,68 ± 2,02 (<i>n</i> = 9)	< 0,02

Примечание: результаты представлены в виде средней и ее стандартной ошибки ($M \pm m$);

* данные взяты из статьи [15], *n* — количество животных.

Таблица 2
Анальгетическая активность соединений I – VII в тесте “уксусные корчи”

Соединение	Количество корчей, <i>k</i>	% уменьшения корчей по сравнению с контролем	<i>p</i> по сравнению с контролем
Контроль	42,8 ± 6,3 (<i>n</i> = 8)	-	-
Метамизол натрия	17,5 ± 4,9 (<i>n</i> = 10)	59,1	< 0,01
I	16,3 ± 7,9 (<i>n</i> = 9)	61,9	< 0,02
II	25,7 ± 10,0 (<i>n</i> = 9)	39,9	> 0,05
III	18,8 ± 5,9 (<i>n</i> = 9)	56,1	< 0,02
IV	10,4 ± 7,4 (<i>n</i> = 9)	75,7	< 0,01
V	20,8 ± 6,2 (<i>n</i> = 9)	51,4	< 0,05
VI	38,4 ± 11,8 (<i>n</i> = 8)	10,3	> 0,05
VII	15,3 ± 4,7 (<i>n</i> = 9)	64,2	< 0,01

Примечание: результаты представлены в виде средней и ее стандартной ошибки ($M \pm m$);

n — количество животных.

зол-3-карбоксилатов являются практически нетоксичными, проявляют анальгетическую активность, что дает основания для дальнейшего изучения механизмов выявленной анальгетической активности, а также других видов биологической активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. Л. Гейн, Т. М. Замараева, Н. А. Бузмакова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **49**(8), 18 – 20 (2015); *Pharm. Chem. J.*, **49**(8), 512 – 514 (2015).
2. E. N. El-Tamany, F. A. El-Shahed, B. H. Mohamed, *J. Serb. Chem. Soc.*, **64**, 9 (1999).
3. A. Feurer, J. Luithle, S. Wirtz, G. Koenig, et al., (Bayer Healthcare AG, Germany), WO 2004009589; *Chem. Abstr.*, **140**, 146157 (2004).
4. A. M. Shestopalov, A. A. Shestopalov, L. A. Rodinovskaya, *Synthesis*, **1**, 1 – 25 (2008).
5. L. A. Rodinovskaya, A. M. Shestopalov, A. Gromova, et al., *Synthesis*, **14**, 2357 – 2370 (2006).
6. Suman Pal, et al., *Tetrahedron Let.*, **54**, 5434 – 5440 (2013).
7. J. L. Wang, D. Liu, Z. J. Zhang, S. Shan, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **97**, 7124 (2000).
8. M. R. Nadia, Y. K. Nahed, A. Fahmyb, A. A. F. Ei-Sayeda, *Pharm. Chem. J.*, **2**, 400 (2010).
9. V. L. Gein, T. M. Zamaraeva, P. A. Slepukhin, *Tetrahedron Let.*, **55**, 4525 – 4528 (2014).
10. А. Н. Миронов (ред.), *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Гриф и К, Москва (2012).
11. В. В. Прозоровский, М. П. Прозоровская, В. М. Демченко, *Фармакол. и токсикол.*, **41**(4), 497 – 502 (1978).
12. Р. У. Хабриев, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств*, Медицина, Москва (2005).
13. В. Л. Гейн, О. В. Бобровская, Г. В. Селиверстов и др., *Хим.-фарм. журн.*, **51**(3), 25 – 28 (2017); *Pharm. Chem. J.*, **51**(3), 187 – 190 (2017).
14. К. К. Сидоров, *Фармакол. новых промышл. хим. веществ*, **13**, 47 – 51 (1973).
15. А. В. Пискарев, В. С. Нестеренко, С. И. Суминов, *Фармакол. и токсикол.*, № 1, 48 – 54 (1973).

Поступила 04.07.17

ESTIMATION OF ACUTE TOXICITY AND ANALGESIC ACTIVITY OF ETHYL-6-AMINO-4-ARYL-5-CYANO-2,4-DIHYDROPYRANO-[2,3-*c*]PYRAZOLO-3-CARBOXYLATES

O. N. Gein, T. M. Zamaraeva, and V. L. Gein*

Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, 614990 Russia

* e-mail: geinvl48@mail.ru

We have studied the acute toxicity and analgesic activity of a series of ethyl-6-amino-4-aryl-5-cyano-2,4-dihydropyrano[2,3-*c*]pyrazole-3-carboxylates. It is established that all compounds studied are almost non-toxic and exhibit analgesic activity.

Keywords: ethyl 6-amino-4-aryl-5-cyano-2,4-dihydropyrano[2,3-*c*]pyrazole-3-carboxylates; acute toxicity; analgesic activity.