

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО
И АНАЛЬГЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ
АЦИКЛИЧЕСКОГО ПРЕДШЕСТВЕННИКА 1,3-ДИАЗИНОНА-4
СОЕДИНЕНИЯ ПЯТd1 И ПРЕПАРАТА ДАПСОН**

**А.В. Воронков¹, С.А. Лужнова², И.П. Кодониди², С.А. Осыченко²,
И.Н. Дьякова², О.Н. Игнатиади², Т.В. Чижикова²**

¹ ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации;

² Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский
государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

В эксперименте, выполненном на 144 крысах-самцах линии Wistar, изучали противовоспалительную активность нового производного диазинона под шифром ПЯТd1 и препарата дапсон на модели острого экссудативного и хронического пролиферативного воспаления. Исследовали анальгетическую активность методом механического раздражения на фоне формалиновой гипералгезии. Полученные результаты свидетельствуют, что соединение ПЯТd1 обладает выраженным противовоспалительным и анальгетическим действием, превосходящим дапсон и сопоставимым с ибупрофеном, диклофенаком и нимесулидом.

Ключевые слова: воспаление, фетровая гранулема, формалиновый отек, анальгетическая активность, дапсон, соединение ПЯТd1, ибупрофен, диклофенак, нимесулид.

DOI 10.19163/1994-9480-2020-2(74)-109-113

**COMPARATIVE ANALYSIS OF ANTI-INFLAMMATORY
AND ANALGETIC ACTIONS OF 1,3-DIAZINO-4
COMPOUNDS PYATd1 ACYCLIC PRECURSOR AND DAPSON**

**A.V. Voronkov¹, S.A. Luzhnova², I.P. Kodonidi², S.A. Osychenko²,
I.N. Dyakova², O.N. Ignatiadi², T.V. Chigikova²**

¹ FSBEI HE «Volgograd State Medical University» of Public Health Ministry of the Russian Federation;

² Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – affiliate of the FSBEI HE «The Volgograd State Medical University» of Public Health Ministry of the Russian Federation

In the experiment performed on 144 Wistar male rats, the anti-inflammatory activities of a new diazinone derivative under the code of PYATd1 and dapson, were studied in the model of acute exudative and chronic proliferative inflammation. The analgetic activity was studied by mechanical irritation against the background of formalin edema. The results obtained indicate that the compound PYATd1 has pronounced anti-inflammatory and analgetic effects, superior to dapson and comparable to ibuprofen, diclofenac and nimesulide.

Key words: inflammation, felt granuloma, formalin edema, analgetic action, dapson, compound PYATd1, ibuprofen, diclofenac, nimesulide.

Воспаление представляет собой патологический процесс, требующий фармакологической коррекции, характерный для многих хронических заболеваний, в том числе инфекционного генеза. Известно, что дапсон, являющийся препаратом выбора для лечения лепры, обладает противовоспалительным действием [9, 10]. Кроме того, его применяют для терапии и ряда других хронических воспалительных дерматологических заболеваний, таких как герпетический дерматит, аутоиммунных заболеваний, а также малярии, пневмоцистной пневмонии и инфекции, вызываемой *Toxoplasma gondii* у ВИЧ-инфицированных пациентов [9, 10]. Дапсон оказывает бактериостатическое действие в отношении микобактерий туберкулеза [9, 10]. Однако применение его ограничено побочными эффектами. Дапсон противопо-

казан при гиперчувствительности, при нарушении функции печени, тяжелых анемиях, обусловленных дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы или метгемоглобинемии [3, 9, 10]. Другой проблемой является появление устойчивых к дапсону *M. leprae*, что значительно снижает эффективность антибактериальной терапии [1, 3, 8], в связи с чем Всемирная организация здравоохранения издало обновленное руководство по мониторингу устойчивости к противомикробным препаратам, применяемым при лепре [1, 8]. Учитывая значимость проблемы, в Пятигорском медико-фармацевтическом институте – филиале ФГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава к России синтезировали соединение, принадлежащее классу ациклических предшественников 1,3-диазинона-4 под лабораторным шифром ПЯТd1, в состав которого входит фрагмент дапсона.

Нашими исследованиями установлено, что соединение ПЯТd1 активно подавляет размножение *M.lufu* (*in vitro*) [3] и *M.leprae* в подушечках лап мышей (модель Шепарда). Выявленное бактериостатическое действие соединения не только сопоставимо с действием основного противолепрозного препарата дапсона, но и при более длительном курсе превосходит его [4].

Учитывая, что ПЯТd1 относится к классу «практически не токсичных веществ» [2], не вызывает при длительном введении таких побочных эффектов, характерных для дапсона, как агранулоцитоз, анемии [9, 10] и др., представляется актуальным исследование его противовоспалительных свойств в сравнении с препаратом дапсон и известными нестероидными противовоспалительными средствами.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Провести сравнительный анализ противовоспалительного и анальгетического действия ациклического предшественника 1,3-диазинона-4 соединения ПЯТd1 и препарата дапсон.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент проведен на 144 крысах-самцах линии *Wistar*, массой 230–250 г, полученных из питомника ФГПУ «Рапполово» РАМН (Ленинградская область).

Во время эксперимента животные находились в контролируемых условиях вивария: при температуре окружающего воздуха (22 ± 2) °С и относительной влажности (65 ± 5) %. Крыс содержали на стандартном пищевом рационе со свободным доступом к пище и воде при естественном освещении. Экспериментальные группы формировали методом случайной выборки с учетом пола и массы тела в качестве ведущих показателей. В новых условиях до начала эксперимента животные проходили адаптацию 14 дней. Все манипуляции с животными осуществляли согласно GLP и «Правилам надлежащей лабораторной практики» [7].

Противовоспалительное действие исследовали на модели острого экссудативного и хронического пролиферативного воспаления [5, 6]. Анальгетическую активность изучали с помощью метода оценки соматической боли, вызванной альгогенами – формалиновый тест [6].

В рамках каждой экспериментальной модели формировали 6 групп, по восемь животных в каждой. Группа 1 являлась контрольной, получала в качестве плацебо дистиллированную воду (1 мл / 100 г веса). Животным 2-й группы вводили дапсон («Novartis»), 3-й – соединение ПЯТd1, 4-й – нимесулид («Panacea biotec»), 5-й – ибупрофен («Синтез»), 6-й – диклофенак («Stada»). При исследовании на модели «формалинового» отека

соединение ПЯТd1 и препараты однократно вводили зондом в желудок в дозе 25 мг/кг за 1 ч до введения формалина; на модели «фетровая гранулема» – 1 раз в день в утреннее время в течение 7 дней.

Острое экссудативное воспаление, модель «формалинового» отека, вызывали введением флогогена под апоневроз задней лапки крысы (0,1 мл 2%-го раствора формалина, «ТК-ТОПАЗ») [5]. Объем конечностей животных измеряли онкометрическим методом до введения и через 3 часа после введения флогогена. В качестве критериев оценки противовоспалительной эффективности использовали прирост объема конечности и показатель торможения воспаления [5, 6]. Прирост отека рассчитывали по формуле:

$$\Pi = \frac{0-И}{И} \times 100,$$

где Π – прирост отека;

- о – величина объема лапы после введения индуктора воспаления;
- и – величина объема лапы до введения индуктора воспаления.

Степень торможения воспаления рассчитывали по формуле:

$$100\% - \left[\frac{0-И}{И} (о) - \frac{0-И}{И} (к) \right] \times 100,$$

где о – подопытные животные (леченые);

к – контрольная группа (без лечения).

Для оценки интенсивности экссудативной фазы и качества процесса пролиферации использовали модель «фетровой гранулемы» [5].

Крысам, находящимся под хлоралгидратным наркозом (350 мг/кг), в области спины выстригали шерсть. В асептических условиях ножницами делали разрез кожи и подкожной клетчатки длиной около 1 см, пинцетом через разрез в подкожной клетчатке формировали полость, в которую имплантировали стерильный ватный шарик массой 10 мг, после этого на рану накладывалось два шва. На восьмые сутки ватные шарики с образовавшейся вокруг них грануляционной тканью извлекали, взвешивали на электронных весах и высушивали в сушильном шкафу до постоянной массы при 60 °С. Пролиферативную реакцию оценивали по разнице между массой высушенной гранулемы и исходной массой шарика. Экссудативную реакцию оценивали по разнице между массой сырой и высушенной гранулемы. Противовоспалительное действие выражали в процентах по отношению к контролю [5, 6].

Анальгетическую активность соединения ПЯТd1 оценивали на модели механического раздражения на фоне формалиновой гипералгезии [5, 6]. Крысам ПЯТd1 и препараты однократно вводили зондом в желудок в дозе 25 мг/кг, через 1 ч в вентролатеральную поверхность правой задней лапки подкожно инъецировалось 0,05 мл 1%-го раствора формалина. Определение болевого

порога проводилось через 2 минуты с применением постоянно увеличивающегося механического давления, точно приложенного к лапе. Величину болевого порога оценивали в граммах по проявлению рефлекса «отдергивания лапы».

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы «BIOSTAT 2009» (Analist Soft Ins., США). Вариационные ряды проверяли на нормальность с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Для всех групп вычисляли среднее значение (M) и стандартную ошибку среднего значения (m). Для оценки межгрупповых различий применяли t-критерий Стьюдента [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали, что через три часа после введения формалина у животных во всех группах наблюдали статистически достоверный отек лапы, свидетельствующий о развитии воспаления, что согласуется с данными литературы [6].

Максимальную степень отека лап фиксировали в контрольной группе у крыс, не получавших препараты. Меньший отек конечности наблюдали в условиях введения нимесулида. Статистически достоверное торможение воспаления, но уступающее нимесулиду, выявлено при введении ибупрофена и диклофенака (табл. 1).

Таблица 1

Показатели противовоспалительной активности ПЯТd1 и дапсона на модели острого экссудативного воспаления

Группы, N = 8	Толщина лапки (M ± m), мм		Прирост отека, %	Торможение воспаления, %
	до введения формалина	через 3 ч после введения формалина		
Контроль	1,39 ± 0,03	1,98 ± 0,03 ^Y	43,05 ± 2,54	–
Дапсон, 25 мг/кг	1,14 ± 0,02	1,44 ± 0,03 ^Y	25,79 ± 2,26 ^{*∞▲¶§}	38,55 ± 6,68 ^{∞▲&α}
ПЯТd1, 25 мг/кг	1,35 ± 0,02	1,56 ± 0,02 ^Y	15,34 ± 1,7 ^{*&▲Δ}	63,27 ± 4,38 ^{&▲Δ}
Нимесулид, 25 мг/кг	1,16 ± 0,04	1,18 ± 0,04 ^Y	2,1 ± 1,38 [*]	95,49 ± 3,08 ^Δ
Ибупрофен, 25 мг/кг	1,16 ± 0,03	1,28 ± 0,03 ^Y	10,96 ± 1,76 [*]	73,84 ± 4,71 ^{▲Δ}
Диклофенак, 25 мг/кг	1,13 ± 0,02	1,24 ± 0,02 ^Y	9,98 ± 1,18 [*]	76,49 ± 2,58 ^Δ

^YP ≤ 0,001 относительно показателей в соответствующих группах до введения формалина; ^{*}P ≤ 0,001 относительно контрольной группы; ^ΔP ≤ 0,001 относительно дапсона; [▲]P ≤ 0,0001 относительно нимесулида; [∞]P ≤ 0,001 относительно ибупрофена; [§]P ≤ 0,02 относительно диклофенака, [∞]P ≤ 0,0001 относительно ПЯТd1.

В условиях введения дапсона наблюдали статистически значимое торможение развитие отека, но более слабое относительно ибупрофена, диклофенака и нимесулида. Противовоспалительная активность соединения ПЯТd1 в сравнении с дапсоном была более выражена, но уступала нимесулиду; незначительно, но статистически достоверно, была ниже, чем у диклофенака, но являлась сопоставимой с действием ибупрофена (см. табл. 1).

На модели хронического воспаления выявлено, что введение соединения ПЯТd1, как и препарата дапсон, приводит к снижению фазы экссудации, относительно значений, полученных в контрольной группе. При этом степень экссудации под действием дапсона статистически достоверно превышает показатели при введении НПВС. При введении ПЯТd1 выраженность экссудации сопоставима с результатами, полученными при использовании нимесулида, ибупрофена и диклофенака (табл. 2). Интенсивность пролиферативных процессов, соответственно, при применении дапсона была ниже, чем в других экспериментальных группах. Уровень пролиферации в условиях ПЯТd1 несколько уступал относительно ибупрофена, диклофенака и нимесулида, но статистически достоверных различий выявлено не было (табл. 2).

Таблица 2

Влияние соединения ПЯТd1 и препарата дапсон на показатели фазы экссудации и пролиферации при хроническом пролиферативном воспалении

Группы, N = 8	Экссудация, Δ, мг	Экссудация (относительно контроля), %	Пролиферация, Δ, мг	Пролиферация (относительно контроля), %
Контроль	0,228 ± 0,015	–	0,061 ± 0,004	–
Дапсон, 25 мг/кг	0,174 ± 0,011 ^{†y}	78,63 ± 6,60 ^z	0,040 ± 0,003 ^{††y}	33,24 ± 6,22 ^{††y}
ПЯТd1, 25 мг/кг	146,000 ± 0,012 ^{**}	67,49 ± 9,25	0,033 ± 0,003 ^{**}	43,76 ± 7,32
Нимесулид, 25 мг/кг	0,131 ± 0,010 ^{**}	58,27 ± 4,68	0,027 ± 0,002 ^{**}	55,44 ± 2,94
Ибупрофен, 25 мг/кг	0,152 ± 0,019 ^{**}	68,92 ± 9,55	0,028 ± 0,004 ^{**}	53,50 ± 6,36
Диклофенак, 25 мг/кг	0,156 ± 0,018 ^{**}	70,49 ± 8,64	0,026 ± 0,003 ^{**}	56,68 ± 5,18

[†]P ≤ 0,01; ^{**}P ≤ 0,001 относительно контроля; ^zP ≤ 0,02; ^{††}P ≤ 0,001 относительно нимесулида.

Исследование противовоспалительной активности дапсона проводилось на многочисленных

моделях воспаления, в различном диапазоне доз и на разных видах лабораторных животных.

Результаты этих исследований показали наличие противовоспалительного эффекта. Дапсон, согласно мнению некоторых авторов, уменьшает выделение простагландинов и лейкотриенов, вследствие чего оказывает противовоспалительный действие. Другие считают, что дапсон подавляет хемотаксис нейтрофилов, ингибирует активность лизосомальных эффектов и обратимо ингибирует миелопероксидазу [9], которая превращает перекись водорода в гипохлористую кислоту, являющуюся мощным окислителем, способным вызвать выраженное повреждение тканей в процессе воспаления. Представляется вполне допустимым считать, что механизмы противовоспалительного действия соединения под лабораторным шифром ПЯТd1, содержащего в своей структуре фрагмент дапсона, могут быть аналогичными, что требует дополнительных исследований.

Изучение анальгетической активности показало, что величина болевого порога при введении препаратов и соединения под лабораторным шифром ПЯТd1, статистически достоверно превышала данный показатель у животных в контрольной группе. Сравнительно менее эффективно действовал дапсон: при его применении животное отдергивало лапу при меньшей нагрузке. Статистически значимого различия между действием нимесулида и соединения ПЯТd1 выявлено не было (табл. 3).

Таблица 3

Показатели анальгетической активности ПЯТd1 и препарата дапсон (метод оценки соматической боли), г

Группы					
Контроль	Дапсон	ПЯТd1	Нимесулид	Ибупрофен	Диклофенак
398,5 ± 22,1	583,8 ± 76,0 ^{***}	859,4 ± 50,7 ^{#####}	1154,4 ± 53,1 ^{#####}	809,3 ± 89,0 ^{****}	879,3 ± 74,8 ^{***}

^{*}*P* ≤ 0,05; ^{****}*P* ≤ 0,001 относительно контроля; ^{#####}*P* ≤ 0,01 относительно дапсона; ^{***}*P* ≤ 0,01 относительно нимесулида; ^{*}*P* ≤ 0,05 относительно диклофенака.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новый ациклический предшественник 1,3-диазинона-4 – соединение под лабораторным шифром ПЯТd1 обладает противовоспалительными свойствами, превосходящими действие дапсона и сопоставимыми, при остром экссудативном воспалении, с ибупрофеном. При развитии хронического пролиферативного воспаления эффективность ПЯТd1 аналогична действию нимесулида, ибупрофена и диклофенака и выше, чем у дапсона.

Исследование активности соединения методом оценки соматической боли выявило наличие у соединения ПЯТd1 анальгезирующих свойств, не уступающих таковым у ибупрофена, диклофенака и нимесулида и превосходящих анальгетическую активность дапсона. Механизмы противовоспалительного и анальгетического действия соединения ПЯТd1 требуют дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Возрастающая угроза развития антимикробной резистентности. Возможные меры [Электронный ресурс] : Всемирная организация здравоохранения. – Женева, 2013. – 130 с. – URL: <http://www.who.int/patientsafety/implementation/amr/publication/ru/> (дата обращения: 03.05.2016).
2. Воронков А.В., Лужнова С. А., Самотруева М. А. и др. Исследование лекарственной безопасности новых производных 1,3-диазинона-4 и их нециклических предшественников // Астраханский медицинский журнал. – 2017. – Т. 12, № 1. – С. 36–43.
3. Лужнова С.А., Габитова Н.М., Воронков А.В. и др. Оценка антимикробной активности некоторых новых производных диазинона // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 2 (Ч. 11). – С. 2377–2380.
4. Лужнова С.А., Воронков А.В., Кодониди И.П. и др. Экспериментальное исследование специфической активности производного 1,3- диазинона-4 соединения ПЯТd1 *in vivo* // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2016. – № 5. – С. 18–22.
5. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1 / под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012.
6. Новиков В.Е., Пожилова Е.В., Маркова Е.О., Илюхин С.А. Влияние антигипоксантов на развитие формалин-индуцированного воспаления // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – № 11. – С. 460–463.
7. Об утверждении Правил лабораторной практики: приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708-н [Электронный ресурс]. – URL: <https://rg.ru/2010/10/10/22/laboratornaya-praktika-dok.html>, свободный (дата обращения: 03.05.2016).
8. Global Leprosy Strategy 2016–2020: Accelerating towards a leprosy-free world [Electronic resource]. – 2016. – URL: <https://www.who.int/lep/resources/9789290225096/en/>.
9. Wozel G., Blasum C. Dapsone in dermatology and beyond // Arch Dermatol Res. – 2014. – Vol. 306, no. 2. – P. 103–124.
10. Zhu Y.I., Stiller M.Y. Dapsone and sulfones in dermatology: Overview and update // Journal of the american academy of dermatology. – 2001. – Vol. 45, no. 3. – P. 420–434. – doi:10.1007/s00403-013-1409-7.

REFERENCES

1. Vozrastajushhaja ugroza razvitija antimikrobnj rezistentnost [An increasing threat of antimicrobial resistance. Possible action] [Electronic resource]: World Health Organization. Geneva, 2013. 130 p. URL: <http://www.who.int/patientsafety/implementation/amr/publication/ru/> (date of viewing: 03.05.2016) (In Russ.; abstr. in Engl.).

2. Voronkov A.V., Luzhnova S. A., Samotrueva M.A., et al. Issledovanie lekarstvennoj bezopasnosti novyh proizvodnyh 1,3-diazinona-4 i ih neciklicheskih predshestvennikov [Investigation of drug safety of new derivatives of 1,3-diazinon-4 and their non-cyclic precursors]. *Astrahanskij medicinskij zhurnal* [Astrakhan Medical Journal], 2017, vol. 12, no. 1, pp. 36–43. (In Russ.; abstr. in Engl.).

3. Luzhnova S.A., Gabitova N.M., Voronkov A.V., et al. Ocenka antimikobakterial'noj aktivnosti nekotoryh novyh proizvodnyh diazinona [Assessment of antimycobacterial activity of some new derivatives of diazinon]. *Fundamental'nye issledovaniya* [Fundamental research], 2015, no. 2 (Part 11), pp. 2377–2380. (In Russ.; abstr. in Engl.).

4. Luzhnova S.A., Voronkov A.V., Codonidi I.P., et al. Jeksperimental'noe issledovanie specificheskoy aktivnosti proizvodnogo 1,3- diazinona-4 soedinenija PJaTd1 *in vivo* [An experimental study of the specific activity of the derivative of 1,3-diazinon-4 of compound PATd1 *in vivo*]. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology], 2016, no. 5, pp. 18–22. (In Russ.; abstr. in Engl.).

5. Mironov A.N. Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv [Guidelines for preclinical studies of drugs]. Part One / A.N. Mironova (ed.). Moscow: Grif and K, 2012. (In Russ.; abstr. in Engl.).

6. Novikov V.E., Pozhilova E.V., Markova E.O., Ilyukhin S. A. Vlijanie antigipoksantov na razvitie formalin-inducirovannogo vospalenija [The effect of antihypoxants on the development of formalin-induced inflammation]. *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij* [International Journal of Applied and Fundamental Research], 2014, no. 11, pp. 460–463. (In Russ.; abstr. in Engl.).

7. Ob utverzhdenii Pravil laboratornoj praktiki: prikaz Ministerstva zdravoohraneniya i social'nogo razvitija Rossijskoj Federacii ot 23 avgusta 2010 g. № 708-n [On approval of the Laboratory Practice Rules: Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation of August 23, 2010 No. 708-n]. [Electronic resource]. URL: <https://rg.ru/2010/10/10/10/22/laboratornaya-praktika-dok.html> (date of viewing: 03.05.2016) (In Russ.; abstr. in Engl.).

8. Global Leprosy Strategy 2016–2020: Accelerating towards a leprosy-free world [Electronic resource]. 2016. URL: <https://www.who.int/lep/resources/9789290225096/en/>.

9. Wozel G., Blasum C. Dapsone in dermatology and beyond. *Arch Dermatol Res.*, 2014, vol. 306, no. 2, pp. 103–124.

10. Zhu Y.I., Stiller M.Y. Dapsone and sulfones in dermatology: Overview and update. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2001, vol. 45, no. 3, pp. 420–434. DOI:10.1007/s00403-013-1409-7.

Контактная информация

Воронков Андрей Владиславович – д. м. н., профессор, заместитель директора по науке НЦИЛС, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: prohor.77@mail.ru