

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ОТДЕЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ А-ЦИАНОТИОАЦЕТАМИДА

Научная статья

Олейник И.С.^{1,*}, Бибик Е.Ю.², Кривоколыско С.Г.³, Стефанов А.В.⁴

¹ ORCID : 0009-0009-5386-181X;

² ORCID : 0000-0001-7470-608X;

³ ORCID : 0000-0001-9879-9217;

^{1,2,3} Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки, Луганск, Российская Федерация

⁴ Стахановский филиал Луганского государственного медицинского университета имени Святителя Луки, Стаханов, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (irina.oleynik.0511[at]gmail.com)

Аннотация

Цель исследований. Определение острой пероральной токсичности *in vivo* новых производных α -цианотиоацетамида с выраженными антиноцицептивными и антиэкссудативными свойствами.

Материалы и методы. Исследование на определение острой токсичности наиболее эффективных образцов проводилось в соответствии с Межгосударственным стандартом ГОСТ 32644-2014 (OECD, Test №423:2001, IDT) на 45 белых лабораторных крысах-самках массой 190-230 г в лаборатории кафедры фундаментальной и клинической фармакологии ГУ ЛНР РФ «Луганский государственный университет имени Святителя Луки». Лабораторные крысы были распределены на 4 опытных и контрольную группы. Исследуемые образцы вводили однократно через желудочный зонд в дозе по 50, 300 и 2000 мг/кг. Исследуя острую пероральную токсичность, нами проводилось наблюдение за каждым лабораторным животным ежедневно в течение 14 дней после однократного введения исследуемых образцов.

Результаты. Введение максимальной дозы (2000 мг/кг) производных α -цианотиоацетамида четырех исследуемых образцов под лабораторными шифрами d02-139, d02-149, d02-168, d02-123 характеризовалось нулевой летальностью, что позволяет отнести их к 5 классу токсичности. Нами не было обнаружено видимых признаков возможной нейротоксичности. В течение трех часов после введения образцов крысы активно проявляли интерес к воде и пище. При сравнении поведения крыс опытных и контрольной групп характерных отличий не отмечено.

Заключение. Четыре исследуемых производных α -цианотиоацетамида с лабораторными шифрами d02-139, d02-149, d02-168 и d02-123 относятся к малотоксичным соединениям (5 класс токсичности).

Ключевые слова: α -цианотиоацетамиды, антиноцицептивная активность, антиэкссудативная активность, острая пероральная токсичность.

DETERMINATION OF THE ACUTE TOXICITY OF CERTAIN A-CYANTHIOACETAMIDE DERIVATIVES

Research article

Oleynik I.S.^{1,*}, Bibik Y.Y.², Krivokolisko S.G.³, Stefanov A.V.⁴

¹ ORCID : 0009-0009-5386-181X;

² ORCID : 0000-0001-7470-608X;

³ ORCID : 0000-0001-9879-9217;

^{1,2,3} Saint Luka Lugansk State Medical University, Lugansk, Russian Federation

⁴ Stakhanov Branch of Saint Luka Lugansk State Medical University, Stakhanov, Russian Federation

* Corresponding author (irina.oleynik.0511[at]gmail.com)

Abstract

Aim of the research. The determination of acute oral toxicity *in vivo* of new α -cyanothioacetamide derivatives with pronounced antinociceptive and antiexudative properties.

Materials and Methods. The study for determination of acute toxicity of the most effective samples was carried out in accordance with the Interstate Standard GOST 32644-2014 (OECD, Test #423:2001, IDT) on 45 white female laboratory rats weighing 190-230 g in the laboratory of the Department of Fundamental and Clinical Pharmacology of the LNR RF "Lugansk State University named after Saint Luke". Laboratory rats were distributed into 4 experimental and control groups. The studied samples were administered once through a gastric tube at a dose of 50, 300 and 2000 mg/kg. Examining acute oral toxicity, we monitored each laboratory animal daily for 14 days after a single administration of the tested samples.

Results. Administration of the maximum dose (2000 mg/kg) of α -cyanothioacetamide derivatives of the four tested samples under laboratory codes d02-139, d02-149, d02-168, d02-123 was characterized by zero lethality, which allows them to be classified as class 5 toxicity. We found no visible signs of possible neurotoxicity. Within three hours after administration of the samples, the rats showed active interest in water and food. When comparing the behaviour of rats of experimental and control groups, no characteristic differences were observed.

Conclusion. The four studied derivatives of α -cyanothioacetamide with laboratory codes d02-139, d02-149, d02-168 and d02-123 belong to low toxic compounds (toxicity class 5).

Keywords: α -cyanothioacetamides, antinociceptive activity, antiexudative activity, acute oral toxicity.

Введение

Актуальными вопросами современной фармакологии являются изыскание и разработка новых высокоэффективных и безопасных с высоким отношением «польза/риск» лекарственных средств с аналгетической и

антиэкссудативной активностью. Обусловлено это тем, что длительное применение нестероидных противовоспалительных средств сопровождается возникновением ряда неблагоприятных действий, таких как нефротоксичность, гематотоксичность, НПВС-индуцированная гастропатия и гепатотоксичность, снижающих качество жизни пациента [1], [2], [3], [4].

Цианотиоацетамид представляет собой легкодоступный и полифункциональный реагент, который широко используется в синтетической органической химии [5]. В ряде работ указано, что различные производные цианотиоацетамида в настоящее время следует считать наиболее перспективными для синтеза новых лекарственных препаратов с разнообразными фармакологическими эффектами [6], [8], [10], [12]. С помощью программ виртуального биоскрининга нами было установлено, что отдельные дериваты α -цианотиоацетамида имеют биомимети, обуславливающие противовоспалительные и анальгетические свойства (аденозиновые A1 и A2a рецепторы, каннабиоидные рецепторы типов CB1 и CB2, простагландин рецепторы типов EP1 и EP4, ЦОГ-2 и др.).

Эти образцы с лабораторными шифрами **d02-122**, **d02-123**, **d02-128**, **d02-133**, **d02-139**, **d02-141**, **d02-149**, **d02-168** были отобраны из 230 новых производных α -цианотиоацетамида, многоступенчатый органический синтез которых проведен нами в научно-исследовательской лаборатории «ХимЭкс».

В процессе экспериментальных исследований *in vivo* болеутоляющей и антиэкссудативной активности этих новых гетероциклических соединений в ряде классических фармакологических тестов на белых лабораторных крысах-самцах выявлены образцы-лидеры, которые в несколько раз эффективнее нимесулида, метамизола натрия, кислоты ацетилсалициловой и индометацина. Это четыре соединения с лабораторными шифрами:

- **d02-123** (5-cyano-*N*-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-2-methyl-6-[(2-oxo-2-{[3(trifluoromethyl)phenyl]amino}ethyl)thio]-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide);

- **d02-149** (6-[(2-anilino-2-oxoethyl)thio]-5-cyano-*N*-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide);

- **d02-139** (5-cyano-*N*-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-6-({2-[(4-methoxyphenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide);

- **d02-168** (5-cyano-*N*-(2,4-dichlorophenyl)-6-({2-[(4-fluorophenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide). Данные образцы представляют собой перспективные объекты для дальнейших доклинических исследований в вопросах безопасности их применения.

Методы и принципы исследования

Эксперимент по определению острой пероральной токсичности четырех образцы производных α -цианотиоацетамида под лабораторными шифрами **d02-123**, **d02-139**, **d02-149** и **d02-168** реализован на 45 белых крысах-самках массой 190-230г в соответствии с ГОСТ 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (утвержден приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии №1700-ст, от 20 ноября 2014 г.). Экспериментальные животные были получены из вивария ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки» в зимний период в лаборатории кафедры фундаментальной и клинической фармакологии. Условия содержания крыс были одинаковыми для всех групп: температура окружающей среды – 22-24°C, режим освещения – естественный, относительная влажность воздуха – 40-50%. На протяжении 14 дней у лабораторных животных был свободный доступ к корму и воде. Химические формулы новых образцов приведены ниже на рисунке 1.

До начала настоящего исследования на протяжении 7 дней осуществлялся осмотр внешнего состояния лабораторных крыс. Животные были отобраны случайным образом. Крысы были распределены на контрольную группу и 4 опытных, по количеству исследуемых вновь синтезированных производных α -цианотиоацетамида. Исследуемые образцы вводились в виде водной суспензии однократно внутривентрально по 50, 300, 2000 мг/кг соответственно схеме в Стандарте (смотреть рисунок 2). Минимальную дозировку 5 мг/кг, предлагаемую в Стандарте, не вводили, поскольку в ранее проведенных опытах по изучению фармакологических свойств на 160 половозрелых лабораторных крысах нами была использована эта дозировка. Видимых признаков токсичности обнаружено не было. Животные контрольной группы получали эквивалентное количество дистиллированной воды.

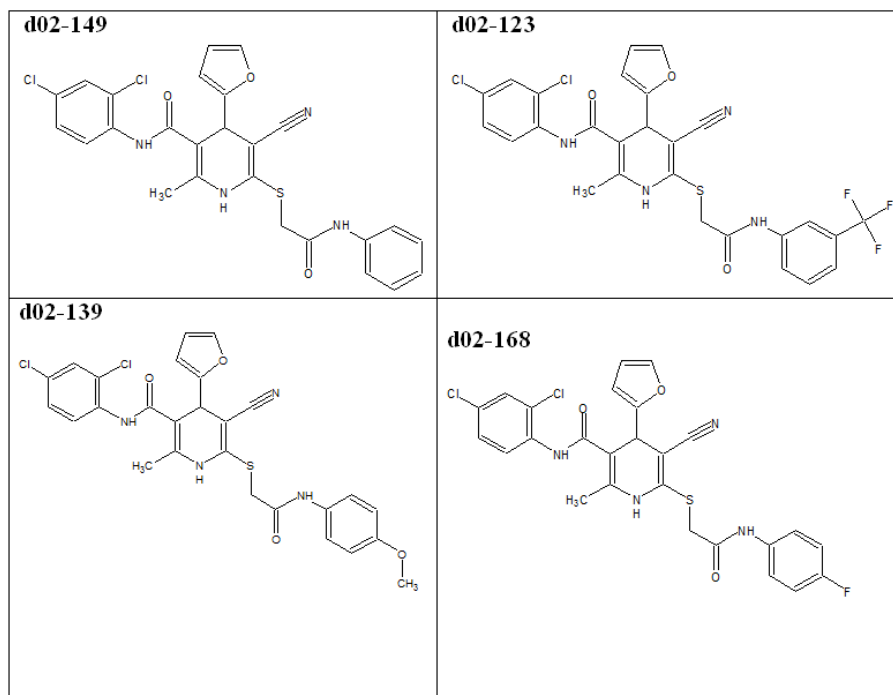


Рисунок 1 - Структурные формулы соединений α -цианоэтиоацетамида, отобранных для проведения эксперимента по определению острой пероральной токсичности

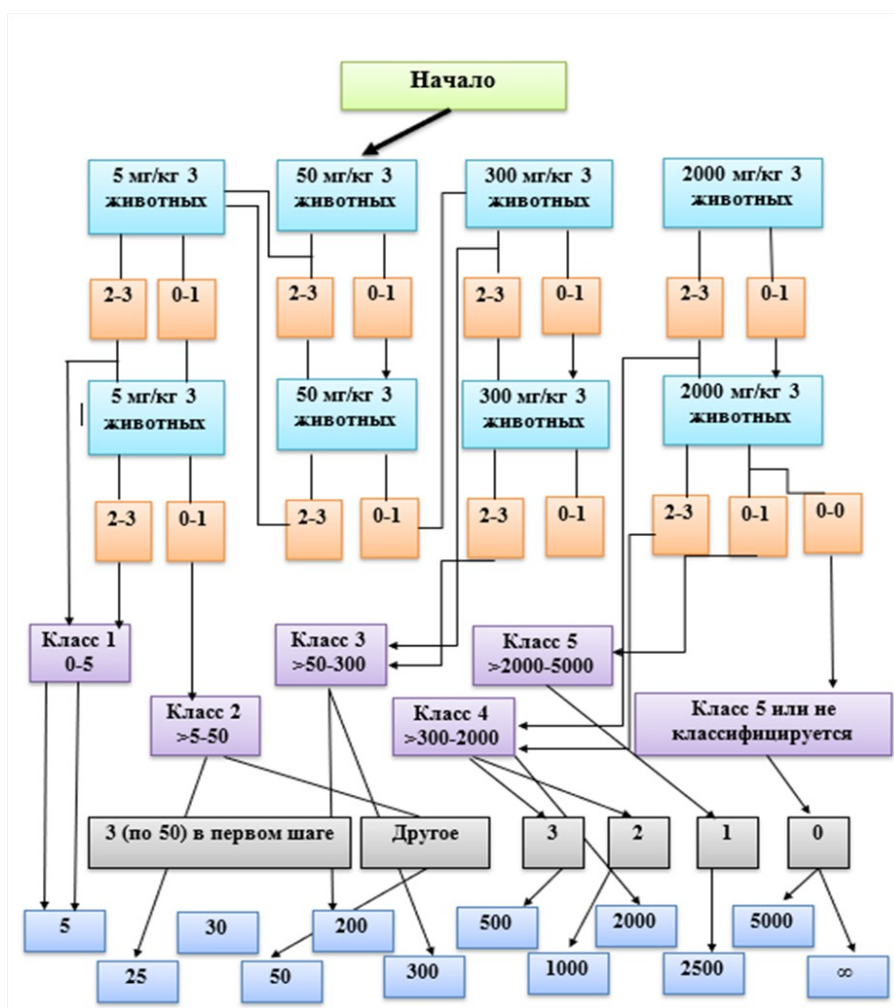


Рисунок 2 - Схема введения исследуемых соединений, начиная с дозировки 50 мг/кг

Основные результаты и обсуждение

О возможном токсическом действии новых вновь синтезируемых образцов судили по общему состоянию крыс и их выживаемости на протяжении 14 дней. На протяжении первого часа эксперимента после введения препаратов поведение крыс всех опытных групп не отличалось от контрольной. Животные были активны, двигательная активность в норме. Судорог отмечено не было. Частота и глубина дыхательных движений в норме у крыс всех опытных групп и сравнима с таковой у животных контрольной группы. Такой характер поведения сохранялся на протяжении всего времени эксперимента. Лабораторные крысы сохраняли интерес к пище. Нами был предложен специализированный корм для крыс и кусочки яблока. Животные из опытных групп, получавшие однократно новые изучаемые нами гетероциклические соединения в дозе 2000 мг/кг уже на пятой минуте после внутрижелудочного зондирования проявили интерес к кусочкам яблока. Через три часа животными потреблялся корм. Доступ к воде также был неограничен, крысы опытных и контрольной групп проявляли одинаковый интерес к воде. Состояние шерстяного покрова крыс во всех группах было нормальным, без изменений от начала эксперимента и до его окончания. Стоит отметить, что количество и консистенция фекальных масс, а также частота мочеиспускания и окраска мочи у крыс, получавших новые производные цианотиоацетамида внутрижелудочно однократно, существенно не отличалась от таковых показателей контрольной группы.

В таблице приведены данные, характеризующие токсичность исследуемых α -цианотиоацетамидов. На протяжении всего периода наблюдения за крысами нами не было зарегистрировано ни одного случая гибели животных в указанных дозах. Отсутствие летальности у крыс, получавших новые производные α -цианотиоацетамида с лабораторными шифрами **d02-139, d02-149, d02-168 и d02-123** в высшей дозе 2000 мг/кг, позволила отнести их к 5 классу токсичности (малотоксичные соединения). Согласно Схемы введения исследуемых соединений используемого Стандарта LD₅₀ для них составляет >5000 мг/кг.

Таблица 1 - Показатели летальности крыс после введения различных доз производных α -цианотиоацетамида в эксперименте на определение острой пероральной токсичности

Группа животных	Доза, мг/кг	Число животных: общее	Число животных: погибшие	Число животных: выжившие	Летальность, %
Контрольная	0	3	0	3	0
d02-139	50	3	0	3	0
d02-139	300	3	0	3	0

d02-139	2000	3	0	3	0
d02-149	50	3	0	3	0
d02-149	300	3	0	3	0
d02-149	2000	3	0	3	0
d02-168	50	3	0	3	0
d02-168	300	3	0	3	0
d02-168	2000	3	0	3	0
d02-123	50	3	0	3	0
d02-123	300	3	0	3	0
d02-123	2000	3	0	3	0

Заключение

Четыре исследуемых новых производных α -цианотиоацетамида с лабораторными шифрами **d02-139, d02-149, d02-168** и **d02-123** имеют $LD_{50} \geq 5000$ мг/кг и относятся к 5 классу токсичности (малотоксичные соединения). Полученные данные в результате экспериментальной работы позволяют рассмотреть перспективность поиска соединений, обладающих антиноцицептивными, антиэкссудативными эффектами с низкой токсичностью и высокой безопасностью, в ряду производных α -цианотиоацетамида.

Результаты данной экспериментальной работы являются обоснованием для дальнейшего исследования фармакологических свойств (противовоспалительных, болеутоляющих, антипиретических, антикоагулянтных и др.) производных α -цианотиоацетамида, общей целью которых станет создание новых эффективных и безопасных лекарственных средств, а также изучение хронической токсичности данных d-образцов.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Пахомова И.Г. Нестероидные противовоспалительные средства: фокус на безопасность при выборе препарата / И.Г. Пахомова, Е.Ю. Павлова // *Consilium medicum. Неврология (прилож.)*. — 2014. — 1. — с. 30–34.
2. Максимов М.Л. Актуальные вопросы эффективности и безопасности современных нестероидных противовоспалительных препаратов / М.Л. Максимов // *Русский медицинский журнал*. — 2014. — 28. — с. 2015.
3. Карева Е.Н. Побочные эффекты нестероидных противовоспалительных средств и пути их профилактики / Е.Н. Карева // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. — 2022. — Т. 85. — 3. — с. 33-44.
4. Алимова Э.Э. Нестероидные противовоспалительные средства, влияние их на нервную систему: нейротоксичность, виды, механизм возникновения / Э.Э. Алимова, Е.Е. Аль-Рабади // *Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии*. — 2021. — 6. — с. 459-464.
5. Магеррамов А.М. α -Цианотиоацетамид / А.М. Магеррамов, Н.Г. Шихалиев, В. Д. Дяченко — Москва: Техносфера, 2018. — 224 с.
6. Бибиб Е.Ю. Исследование новых производных 1,4-дигидропиридинов как потенциальных средств с противовоспалительной активностью: рандомизированное контролируемое исследование / Е.Ю. Бибиб, Д.С. Кривоколыско, Г.А. Батищева // *Кубанский научный медицинский вестник*. — 2022. — 1 (29). — с. 77-95.
7. Кривоколыско Д.С. Синтез, строение и анальгетическая активность этиловых эфиров 4-({4-(2-фурил)-5-циано-1,4-дигидропиридин-3-ил} карбоксамида) бензойной кислоты / Д.С. Кривоколыско, В.В. Доценко, Е.Ю. Бибиб // *Журнал общей химии*. — 2022. — 1 (92). — с. 72-91.
8. Frolov K. A. Synthesis and Alkylation of N-Methylmorpholinium 4-Aryl-3-cyano-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydroquinoline-2-selenolates / K. A. Frolov, V. V. Dotsenko, S. G. Krivokolysko // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. — 2013. — 1. — p. 1146-1150.
9. Bibik I.V. Synthesis and analgesic activity of new heterocyclic cyanothioacetamide derivatives / I.V. Bibik, E.Y. Bibik, V.V. Dotsenko // *Russian Journal of General Chemistry*. — 2021. — Vol. 91. — 2. — p. 154-166.
10. Krivokolysko D.S. New 4-(2-Furyl)-1,4-dihydronicotinonitriles and 1,4,5,6-Tetrahydronicotinonitriles: Synthesis, Structure, and Analgesic Activity / D.S. Krivokolysko, V.V. Dotsenko, E.Y. Bibik // *Russian Journal of General Chemistry*. — 2021. — Vol. 91. — 9. — p. 1646-1660.
11. Gouda M.A. A Review: Synthesis and Medicinal Importance of Nicotinonitriles and Their Analogous / M.A. Gouda, B.H. Hussein, M.H. Helal // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. — 2018. — Vol. 55. — 7. — p. 1524-1553.
12. Gouda M.A. Chemistry of 2-Amino-3-cyanopyridines / M.A. Gouda, M.A. Berghot, G.E. Ghani // *Synthetic Communications*. — 2014. — Vol. 44. — 3. — p. 297.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Pahomova I.G. Nesteroidnye protivovospalitel'nye sredstva: fokus na bezopasnost' pri vybore preparata [Non-steroidal anti-inflammatory drugs: focus on safety when choosing a drug] / I.G. Pahomova , E.Ju. Pavlova // Consilium medicum. Nevrologija (prilozh.) [Consilium medicum. Neurology (app.)]. — 2014. — 1. — p. 30–34. [in Russian]
2. Maksimov M.L. Aktual'nye voprosy effektivnosti i bezopasnosti sovremennyh nesteroidnyh protivovospalitel'nyh preparatov [Topical issues of efficacy and safety of modern non-steroidal anti-inflammatory drugs] / M.L. Maksimov // Russkij medicinskij zhurnal [Russian medical journal]. — 2014. — 28. — p. 2015. [in Russian]
3. Kareva E.N. Pobochnye efekty nesteroidnyh protivovospalitel'nyh sredstv i puti ih profilaktiki [Side effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs and ways of their prevention] / E.N. Kareva // Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija [Experimental and clinical pharmacology]. — 2022. — Vol. 85. — 3. — p. 33-44. [in Russian]
4. Alimova E.E. Nesteroidnye protivovospalitel'nye sredstva, vlijanie ih na nervnuju sistemu: nejrotoksichnost', vidy, mehanizm voznikovenija [Non-steroidal anti-inflammatory drugs, their effect on the nervous system: neurotoxicity, types, mechanism of occurrence] / E.E. Alimova , E.E. Al'-Rabadi // Vestnik nevrologii, psihiatrii i nejrohirurgii [Bulletin of neurology, psychiatry and neurosurgery]. — 2021. — 6. — p. 459-464. [in Russian]
5. Magerramov A.M. α -Tsianotioatsetamid [α -Cyanothioacetamide] / A.M. Magerramov, N.G. Shihaliev, V. D. Djachenko — Moskva: Tehnosfera, 2018. — 224 p. [in Russian]
6. Bibik E.Ju. Issledovanie novyh proizvodnyh 1,4-digidropiridinov kak potentsial'nyh sredstv s protivovospalitel'noĭ aktivnost'ju: randomizirovannoe kontroliruemoje issledovanie [Study of new derivatives of 1,4-dihydropyridines as potential agents with anti-inflammatory activity: a randomized controlled trial] / E.Ju. Bibik , D.S. Krivokolysko, G.A. Batischeva // Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik [Kuban Scientific Medical Bulletin]. — 2022. — 1 (29). — p. 77-95. [in Russian]
7. Krivokolysko D. S. Sintez, stroenie i anal'geticheskaja aktivnost' etilovyh efirov 4-({4-(2-furil)-5-tsiano-1,4-digidropiridin- 3-il} karboksamido) benzoĭnoĭ kisloty [Synthesis, structure and analgesic activity of 4-({4-(2-furyl)-5-cyano-1,4-dihydropyridin-3-yl}carboxamido)benzoic acid ethyl esters] / D.S. Krivokolysko , V.V. Dotsenko, E.Ju. Bibik // Zhurnal obshhej himii [Journal of General Chemistry]. — 2022. — 1 (92). — p. 72-91. [in Russian]
8. Frolov K. A. Synthesis and Alkylation of N-Methylmorpholinium 4-Aryl-3-cyano-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydroquinoline-2-selenolates / K. A. Frolov , V. V. Dotsenko, S. G. Krivokolysko // Chemistry of Heterocyclic Compounds. — 2013. — 1. — p. 1146-1150.
9. Bibik I.V. Synthesis and analgesic activity of new heterocyclic cyanothioacetamide derivatives / I.V. Bibik , E.Y. Bibik, V.V. Dotsenko // Russian Journal of General Chemistry. — 2021. — Vol. 91. — 2. — p. 154-166.
10. Krivokolysko D.S. New 4-(2-Furyl)-1,4-dihydropyridinonitriles and 1,4,5,6-Tetrahydropyridinonitriles: Synthesis, Structure, and Analgesic Activity / D.S. Krivokolysko , V.V. Dotsenko, E.Y. Bibik // Russian Journal of General Chemistry. — 2021. — Vol. 91. — 9. — p. 1646-1660.
11. Gouda M.A. A Review: Synthesis and Medicinal Importance of Nicotinonitriles and Their Analogous / M.A. Gouda , B.H. Hussein, M.H. Helal // Journal of Heterocyclic Chemistry. — 2018. — Vol. 55. — 7. — p. 1524-1553.
12. Gouda M.A. Chemistry of 2-Amino-3-cyanopyridines / M.A. Gouda , M.A. Berghot, G.E. Ghani // Synthetic Communications . — 2014. — Vol. 44. — 3. — p. 297.