

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.140.69>

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИАНОТИОАЦЕТАМИДА В ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Научная статья

Бибик Е.Ю.^{1,*}, Саул А.С.², Кривоколыско С.Г.³, Олейник И.С.⁴, Моисеева И.Я.⁵, Бухтоярова Д.Р.⁶, Амелин Н.Д.⁷, Панков А.А.⁸, Топко К.Ю.⁹, Иванова Э.Р.¹⁰, Иванец Н.В.¹¹, Антипов Н.В.¹², Дольнова С.С.¹³, Фролов К.А.¹⁴

¹ ORCID : 0000-0001-7470-608X;

³ ORCID : 0000-0001-9879-9217;

⁴ ORCID : 0009-0009-5386-181X;

⁵ ORCID : 0000-0003-1168-2871;

¹⁴ ORCID : 0000-0002-8045-7582;

^{1, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 11, 13} Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки, Луганск, Российская Федерация

^{2, 12} Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького, Донецк, Российская Федерация

⁵ Пензенский государственный университет, Пенза, Российская Федерация

^{8, 14} Луганский государственный университет имени Владимира Даля, Луганск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (helen_bibik[at]mail.ru)

Аннотация

Введение. Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) в настоящее время широко применяются пациентами для облегчения боли, устранения признаков воспаления и лихорадочного синдрома. С учетом масштаба применения лекарственных средств данной группы, вопросы их эффективного использования и безопасности чрезвычайно актуальны.

Цель исследования. Изучить гепатотоксичность после двухнедельного введения наиболее часто применяемых в клинике НПВС и новых производных цианотиоацетамида с наиболее выраженной анальгетической активностью.

Методы. Реализован эксперимент на 80-ти белых беспородных крысах-самцах. Пять образцов производных цианотиоацетамида в дозе 5 мг/кг для каждой экспериментальной группы животных, а также четыре классических НПВС – нимесулид (5 мг/кг), индометацин (7 мг/кг), кислота ацетилсалициловая и парацетамол в дозах 50 мг/кг вводились животным на протяжении 2 недель. Материал исследований – кровь, в которой изучались значения концентрации общего билирубина, аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы.

Результаты. Полученные результаты выявили, что среди исследуемых пяти новых оригинальных производных цианотиоацетамида с выраженными болеутоляющими свойствами, вводимых ежедневно внутриастрально в течение 14 суток, в дозе 5 мг/кг, наиболее благоприятно воздействующими на функционирование печени по показателям общего билирубина, аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы являются соединения с лабораторными шифрами d02-123 и d02-139, поскольку значения показателей на фоне их применения статистически значимо не отличались от таковых у интактных животных.

Биохимический анализ крови крыс, получавших новые производные цианотиоацетамида с анальгетической активностью с шифром d02-149 на протяжении 2 недель, свидетельствует о его гепатоксичности. Полученные результаты представляют практический интерес для создания новых высокоэффективных и безопасных лекарственных средств.

Заключение. Из исследуемых пяти новых оригинальных производных цианотиоацетамида с выраженными болеутоляющими свойствами, вводимых ежедневно внутриастрально в течение 14 суток в дозе 5 мг/кг, наиболее безопасным по воздействию на функционирование печени является соединение с лабораторным шифром d02-123.

Ключевые слова: производные цианотиоацетамида, нестероидные противовоспалительные средства, биохимические показатели, гепатотоксичность.

A STUDY OF HEPATOTOXICITY OF NEW CYANOTHIACETAMIDE DERIVATIVES IN A CHRONIC EXPERIMENT

Research article

Bibik Y.Y.^{1,*}, Saul A.S.², Krivokolisko S.G.³, Oleynik I.S.⁴, Moiseeva I.Y.⁵, Bukhtoyarova D.R.⁶, Amelin N.D.⁷, Pankov A.A.⁸, Topko K.Y.⁹, Ivanova E.R.¹⁰, Ivanets N.V.¹¹, Antipov N.V.¹², Dolnova S.S.¹³, Frolov K.A.¹⁴

¹ ORCID : 0000-0001-7470-608X;

³ ORCID : 0000-0001-9879-9217;

⁴ ORCID : 0009-0009-5386-181X;

⁵ ORCID : 0000-0003-1168-2871;

¹⁴ ORCID : 0000-0002-8045-7582;

^{1, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 11, 13} Lugansk State Medical University named after St. Luke, Luhansk, Russian Federation

^{2, 12} Donetsk State Medical University named after M. Gorky, Donetsk, Russian Federation

⁵ Penza State University, Penza, Russian Federation

^{8, 14} Vladimir Dahl Lugansk State University, Lugansk, Russian Federation

* Corresponding author (helen_bibik[at]mail.ru)

Abstract

Introduction. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are now widely used by patients for pain relief, elimination of signs of inflammation and fever syndrome. Given the scale of use of drugs of this group, the issues of their effective use and safety are extremely relevant.

Objective of the study. To examine hepatotoxicity after two-week administration of the most frequently used in the clinic, NSAIDs and new cyanothioacetamide derivatives with the most pronounced analgesic activity.

Methods. The experiment on 80 white male mongrel rats was carried out. Five samples of cyanothioacetamide derivatives at a dose of 5 mg/kg for each experimental group of animals, as well as four classical NSAIDs – nimesulide (5 mg/kg), indomethacin (7 mg/kg), acetylsalicylic acid and paracetamol at a dose of 50 mg/kg were administered to animals for 2 weeks. The study material was blood, in which the values of total bilirubin, alanine aminotransferase and alkaline phosphatase concentrations were studied.

Results. The obtained results showed that among the studied five new original derivatives of cyanothioacetamide with pronounced analgesic properties, administered daily intragastrically for 14 days at a dose of 5 mg/kg, the most favourable effects on the liver function in terms of total bilirubin, alanine aminotransferase and alkaline phosphatase are compounds with laboratory codes d02-123 and d02-139, because the values of the indicators on the background of their application did not statistically significantly differ from those in intact animals.

Biochemical analysis of blood of rats receiving new derivatives of cyanothioacetamide with analgesic activity with code d02-149 for 2 weeks indicates its hepatotoxicity. The results obtained are of practical interest for the development of new highly effective and safe drugs.

Conclusion. Of the five new original cyanothioacetamide derivatives with pronounced analgesic properties, administered daily intragastrically for 14 days at a dose of 5 mg/kg, the compound with the laboratory code d02-123 is the safest in terms of its effect on liver function.

Keywords: cyanothioacetamide derivatives, non-steroidal anti-inflammatory drugs, biochemical parameters, hepatotoxicity.

Введение

В настоящее время проблема рациональной и эффективной фармакокоррекции болевого синдрома характеризуется высокой актуальностью. НПВП применяют при болевом синдроме различной этиологии, воспалительных реакциях и лихорадке (заболеваниях костно-мышечной системы и суставов, послеоперационных болях, головных болях напряжения, мигрени, дисменорее, почечной и печеночной коликах, синдроме хронической боли, простудных заболеваниях и т.д.). Применение населением НПВС проявляет тенденцию к возрастанию. Так, в Великобритании зарегистрировано около 15 млн. назначений НПВС в год, а в США ежегодно назначается и выписывается 111 млн. рецептов на НПВП. Приблизительно 36 млн. человек принимают безрецептурные лекарственные средства данной группы [1], [2], [3].

Значительное количество современных болеутоляющих средств обладает широким спектром побочных эффектов, противопоказаний и лекарственных взаимодействий, что делает их практическое применение затруднительным. Наличие неблагоприятных эффектов при их применении обуславливает необходимость поиска высокоэффективных и безопасных лекарственных средств с выраженными анальгетическими свойствами.

НПВС на протяжении последних десятилетий являются самой назначаемой группой лекарственных средств в мире. Кеторолак, диклофенак, ибупрофен, индометацин, парацетамол, кислота ацетилсалициловая, нимесулид и другие высокоэффективные лекарственные средства имеют многочисленный спектр неблагоприятных реакций, включающий ulcerогенность, гепатотоксичность, нефротоксичность, гематотоксичность, нейротоксичность, кардиотоксичность и другие. Из представленных на фармацевтическом рынке ненаркотических анальгетиков-антипиретиков у кеторолака отмечается высокая степень ulcerогенности, у ацетаминофена (парацетамола) явно выраженная дозозависимая гепатотоксичность, у метамизола натрия – гематотоксичность и нейротоксичность, у кислоты ацетилсалициловой и индометацина – нефротоксичность, согласно [4], [5], [6].

Значительный интерес для современных научных исследований представляют новые гетероциклические соединения из ряда производных цианотиоацетамида [7], [8], [9]. Последний является доступным реагентом, зарекомендовавшим себя в качестве незаменимого компонента при получении широкого круга серо- и азотсодержащих гетероциклических соединений. В первую очередь, цианотиоацетамид нашел применение в синтезе важных полупродуктов тонкого органического синтеза – 2-меркапто(2-тиоксо)никотинитрилов и родственных им 3-цианопиридин-2-тиолатов. Такие соединения, в свою очередь, активно используются в дальнейших гетероциклизациях в производные тиено[2,3-*b*]пиридина, тиазоло[3,2-*a*]пиридина, изотиазоло[5,4-*b*]пиридина, пиридо[2,1-*b*] [1,3,5]тиадиазина и ряда других гетероциклических структур. Установлено, что некоторые из них обладают биологической активностью [10], [11], [12].

В этой связи осуществлен предварительный отбор из 340 синтезированных нами на базе НИЛ «ХимЭкс» ЛГУ им. Владимира Даля новых производных цианотиоацетамида при помощи программного обеспечения виртуального биоскрининга Swiss Target Prediction [13]. Отобранные в результате образцы исследованы в классических фармакологических тестах на наличие болеутоляющих свойств.

Результаты ранее проведенных исследований в тесте орофациальной тригеминальной боли показали, что соединения с лабораторными шифрами d02-141 и d02-154 на 10-й минуте наблюдений проявили анальгетическую активность в 1,8...1,9 раза более высокую, чем у метамизола натрия. Животные, получавшие образцы d02-123 и d02-149, демонстрируют возрастание анальгетической активности в 3,5 и 3,2 раза на 10-й и 15-й минутах наблюдения. Внутригастральное введение соединения d02-139 способствует уменьшению количества чесательных движений в 7,9

раза через 10 минут. Введение соединений с лабораторными шифрами d02-133 и d02-172 характеризовалось резким 10- и 20-ти кратным снижением количества чесательных движений на ранних сроках моделируемого острого болевого синдрома инъекцией формалина в область вибрисс, что превышает данные показатели у метамизола натрия в 9,8 и 21,4 раза соответственно, согласно [14].

Исследования острой пероральной токсичности показали перспективность производных цианотиоацетамида для дальнейшей их разработки [15].

Для оценки их возможного гепатотоксического действия, актуальным с нашей точки зрения было изучение влияния часто применяемых в клинической практике НПВС и синтезированных новых гетероциклических соединений с анальгетической активностью на функциональное состояние печени в хроническом эксперименте.

Методы и принципы исследования

Эксперимент реализован на 80 белых беспородных крысах-самцах массой 220...250г, полученных из вивария ФГБОУ ВО «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки» МЗ РФ, в осенне-зимний период в лаборатории кафедры фундаментальной и клинической фармакологии с естественным режимом освещения. Крысы распределялись на интактную и 9 экспериментальных групп по 8 особей: животные первых четырех (референтные) получали индометацин в дозе 7 мг/кг, нимесулид в дозе 5 мг/кг, кислоту ацетилсалициловую и парацетамол в дозе 50 мг/кг однократно в сутки на протяжении 14 дней. Оставшиеся пять групп (опытные) включали животных, которым через желудочный зонд в виде водной взвеси вводили оригинальные синтезированные производные цианотиоацетамида с наиболее выраженной анальгетической активностью по результатам проведенных ранее экспериментов *in vivo*. Дизайн составлен в соответствии с руководством по доклиническим исследованиям [16]. Их структура и химическое строение представлены ниже на рисунках 1-5.

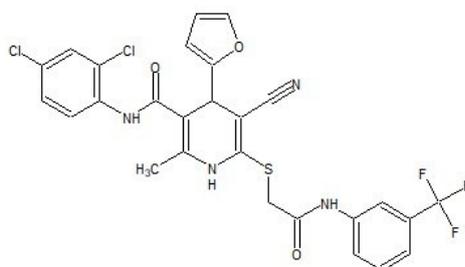


Рисунок 1 - d02-123: 5-циано-N-(2,4-дихлорфенил)-4-(2-фурил)-2-метил-6-[(2-оксо-2-[[3-(трифлуорометил)фенил]амино]этил)тио]-1,4-дигидропиридин-3-карбоксамид
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.140.69.1>

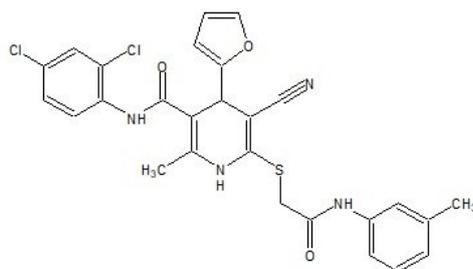


Рисунок 2 - d02-133: 5-циано-N-(2,4-дихлорфенил)-4-(2-фурил)-2-метил-6-({2-[(3-метилфенил)амино]-2-оксоэтил}тио)-1,4-дигидропиридин-3-карбоксамид
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.140.69.2>

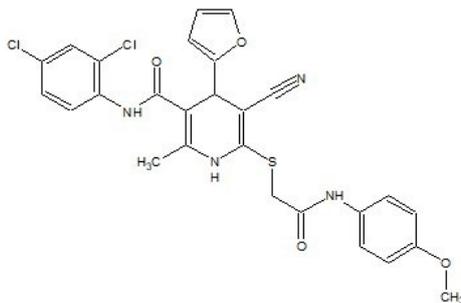


Рисунок 3 - d02-139: 5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-6-({2-[(4-methoxyphenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.140.69.3>

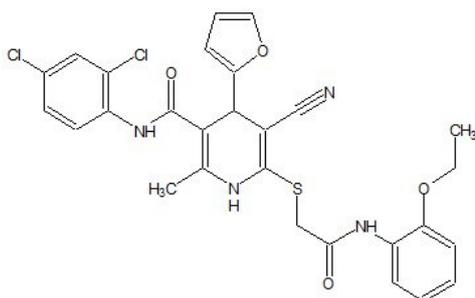


Рисунок 4 - d02-172: 5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-6-({2-[(2-ethoxyphenyl)amino]-2-oxoethyl}thio)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.140.69.4>

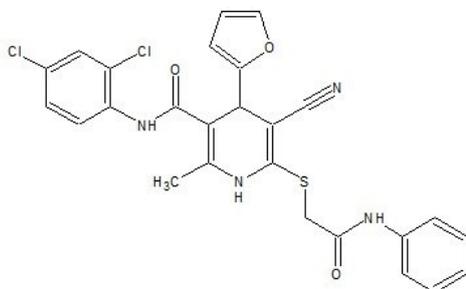


Рисунок 5 - d02-149: 6-[(2-anilino-2-oxоethyl)thio]-5-cyano-N-(2,4-dichlorophenyl)-4-(2-furyl)-2-methyl-1,4-dihydropyridine-3-carboxamide
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.140.69.5>

В экспериментах задействованы группы из 8 животных. Исследуемые новые гетероциклические соединения вводили в соответствующих группах внутривенно, в дозе 5 мг/кг однократно в день, в течение 14-х суток крысам, лишенным пищи за 16 часов до опыта. Забой осуществлялся на 15-й день.

За животными всех групп осуществлялся визуальный мониторинг поведенческой активности, аппетита, жажды, состояния шерстного покрова. После окончания эксперимента производился забор крови из бедренной вены. Стандартными методиками (кинетическими колориметрическими) на спектрофотометре SOLAR PM 2111 определяли уровень общего билирубина и щелочной фосфатазы, а также активность аланинаминотрансферазы в крови животных всех групп.

Экспериментальные исследования осуществлялись в полном соответствии с приказом №199н Минздрава России от 1 апреля 2016 года (Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики) НЗ. На всем протяжении периода исследований лабораторные животные были под наблюдением в условиях свободного доступа к пище и воде, 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.).

Исследования получили одобрение комиссии по биоэтике ФГБОУ ВО «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки», Министерства здравоохранения РФ (Луганск, кв. 50-летия Оборона Луганска, 1Г), протокол №6 от 01.11.2021 г.

При обработке и анализе полученных экспериментальных данных проверялась нормальность их распределения по критерию Шапиро-Уилка, так как в большинстве случаев количество замеров $n < 50$.

Если данные по группам не имели нормального распределения, то последующий статистический анализ осуществлялся методами непараметрической статистики [17]. При этом сравнение групп данных производилось множественным непараметрическим методом по критерию Крускала-Уоллиса в онлайн-ресурсе Kruskal Wallis Test Calculator, с последующим post-hoc анализом по критерию Данна. Нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$ [18], [19].

Данный подход позволяет обнаружить существенные различия в группах, когда t -критерий Стьюдента их не выявляет при распределениях, далеких от нормального.

Основные результаты

Полученные в эксперименте данные биохимических исследований по уровню общего билирубина в крови крыс представлены в таблице 1. При сравнении средних значений этого показателя у животных референтных групп с таковыми у интактных крыс установлены наиболее выраженные изменения в группах, где вводили парацетамол и нимесулид.

Таблица 1 - Содержание общего билирубина в сыворотке крови

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.140.69.6>

Группы животных	Шифр	$X_{\text{ср}}$, мкмоль/л	M_e , мкмоль/л	S , мкмоль/л	V , %	* p -критерий
Интактная	x1	14,0	14,2	1,98	14,1	0,83
Индометацин	x2	15,9	16,0	1,63	10,2	0,86
Парацетамол	x3	18,2	17,5	5,01	27,5	0,24
Ацетилсалициловая кислота	x4	13,5	14,0	2,05	15,2	0,13
Нимесулид	x5	18,9	20,4	5,03	26,6	0,24
d02-123	x6	13,0	13,1	1,34	10,3	0,57
d02-133	x7	16,4	17,8	4,34	26,4	0,22
d02-139	x8	13,8	13,5	1,63	11,8	0,90
d02-149	x9	20,8	20,0	3,46	16,6	0,27
d02-172	x10	17,0	15,9	4,48	26,3	0,46

*Примечание: *если p -критерий больше принятого уровня значимости $\alpha = 0.05$, то распределение является нормальным; так, значение общего билирубина в крови крыс, которые через желудочный зонд получали парацетамол в течение двух недель, возрастает на 30% в сравнении со значениями у интактных животных*

Из табл. 1 следует, что введение нимесулида в эксперименте по изучению хронической гепатотоксичности привело к увеличению уровня билирубина на 35% в сравнении с нормальными его значениями у интактных крыс.

Анализируя исследуемый биохимический маркер функционального состояния печени в крови животных опытных групп, получавших различные оригинальные дериваты цианотиоацетамида, не были зарегистрированы изменения концентрации общего билирубина у крыс, получавших на протяжении 14 суток соединения с лабораторными шифрами d02-123 и d02-139.

Апостериорный тест Данна с использованием поправки Бонферрони (0,001111) показал, что средние ранги следующих пар различаются (где $p < \alpha$, при $\alpha = 0,05$). Чем меньше значение p , тем больше различие между соответствующими соединениями (табл. 2). Минимальные отличия от исходных значений (у интактных крыс) зафиксированы для крыс опытных групп d02-123 и d02-139.

Наиболее выраженное влияние на уровень общего билирубина оказал новый образец - гетероциклическое соединение с шифром d02-149, поскольку его хроническое действие привело к достоверному увеличению концентрации исследуемого биохимического маркера на 48% (табл. 1) в сравнении со значениями у интактных животных (табл. 2).

Полученные результаты биохимических исследований, отражающие функционирование органа детоксикации, также свидетельствуют о том, что в крови крыс после двухнедельного введения соединения с лабораторным шифром d02-172 увеличивается уровень общего билирубина на 21% в сравнении с показателями в интактной группе.

Таблица 2 - Результаты множественного сравнения данных по критерию Крускала-Уоллиса

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.140.69.7>

Пара	x1-x2	x1-x3	x1-x4	x1-x5	x1-x6	x1-x7	x1-x8	x1-x9
<i>p</i>	0,187	0,076	0,780	0,019	0,380	0,114	0,788	0,001
Пара	x1-x10	x2-x3	x2-x4	x2-x5	x2-x6	x2-x7	x2-x8	x2-x9
<i>p</i>	0,179	0,647	0,110	0,309	0,028	0,792	0,112	0,055
Пара	x2-x10	x3-x4	x3-x5	x3-x6	x3-x7	x3-x8	x3-x9	x3-x10
<i>p</i>	0,978	0,040	0,575	0,008	0,846	0,040	0,143	0,667
Пара	x4-x5	x4-x6	x4-x7	x4-x8	x4-x9	x4-x10	x5-x6	x5-x7
<i>p</i>	0,009	0,550	0,063	0,991	0,0004	0,104	0,0013	0,451
Пара	x5-x8	x5-x9	x5-x10	x6-x7	x6-x8	x6-x9	x6-x10	x7-x8
<i>p</i>	0,009	0,366	0,322	0,014	0,543	0,00004	0,026	0,064
Пара	x7-x9	x7-x10	x8-x9	x8-x10	x9-x10	-	-	-
<i>p</i>	0,097	0,812	0,0004	0,106	0,058	-	-	-

Животные, получавшие в эксперименте соединение с шифром d02-133 не имели достоверных различий с таковыми у интактных крыс по уровню общего билирубина в крови.

Исходя из полученных показателей общего билирубина крови видно, что у животных двух экспериментальных групп, получавших различные образцы производных цианотиоацетамида с шифрами d02-123 и d02-139, не обнаружены признаки возрастания концентрации этого показателя в хроническом эксперименте.

Еще одним маркером функционального состояния печени является щелочная фосфатаза, активность которой у крыс референтных групп различна, что видно из данных, приведенных в табл. 3. Так, крысы после двухнедельного введения парацетамола характеризовались повышением активности щелочной фосфатазы на 39% в сравнении с таковой, зарегистрированной у животных интактной группы. После соответствующего введения нимесулида зафиксировано возрастание активности этого печеночного маркера в биохимическом анализе крови крыс на 44,2% от нормальных значений.

Таблица 3 - Содержание щелочной фосфатазы билирубина в сыворотке крови

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.140.69.8>

Группы животных	Шифр	$X_{ср}$, мкмоль/л	Me, мкмоль/л	S, мкмоль/л	V, %	* <i>p</i> -критерий
Интактная	x1	437,3	424,6	67,03	15,3	0,36
Индометацин	x2	383,7	370,8	90,89	23,7	0,44
Парацетамол	x3	606,8	526,6	169,9	27,7	0,10
Ацетилсалициловая кислота	x4	487,0	443,8	91,6	18,8	0,14
Нимесулид	x5	630,4	569,3	156,9	24,9	0,22
d02-123	x6	404,9	416,4	84,4	20,8	0,69
d02-133	x7	601,4	568,0	119,4	19,8	0,21
d02-139	x8	575,2	540,8	92,0	16,0	0,37
d02-149	x9	596,8	591,6	141,9	23,4	0,91
d02-172	x10	468,1	429,4	163,9	35,1	0,13

Примечание: *если *p*-критерий больше принятого уровня значимости $\alpha = 0,05$, то распределение является нормальным

Наиболее выраженное влияние на активность щелочной фосфатазы установлено при введении по дизайну эксперимента новых соединений с шифрами d02-149 и d02-133, поскольку их хроническое воздействие привело к возрастанию на 36% и 37% активности исследуемого биохимического маркера в сравнении с интактными значениями, соответственно (табл. 3).

Апостериорный тест Данна с использованием поправки Бонферрони (0,001111) показал, что средние ранги следующих пар различаются (где $p < \alpha$, при $\alpha = 0,05$), табл. 4.

Таблица 4 - Результаты множественного сравнения показателей щелочной фосфатазы по критерию Крускала-Уоллиса

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.140.69.9>

Пара	x1-x2	x1-x3	x1-x4	x1-x5	x1-x6	x1-x7	x1-x8	x1-x9
<i>p</i>	0,435	0,026	0,420	0,009	0,587	0,015	0,029	0,024
Пара	x1-x10	x2-x3	x2-x4	x2-x5	x2-x6	x2-x7	x2-x8	x2-x9
<i>p</i>	0,702	0,003	0,112	0,0007	0,813	0,001	0,003	0,002
Пара	x2-x10	x3-x4	x3-x5	x3-x6	x3-x7	x3-x8	x3-x9	x3-x10
<i>p</i>	0,245	0,157	0,698	0,006	0,834	0,966	0,970	0,066
Пара	x4-x5	x4-x6	x4-x7	x4-x8	x4-x9	x4-x10	x5-x6	x5-x7
<i>p</i>	0,072	0,177	0,104	0,170	0,146	0,671	0,0016	0,859
Пара	x5-x8	x5-x9	x5-x10	x6-x7	x6-x8	x6-x9	x6-x10	x7-x8
<i>p</i>	0,667	0,727	0,026	0,003	0,006	0,005	0,354	0,800
Пара	x7-x9	x7-x10	x8-x9	x8-x10	x9-x10	-	-	-
<i>p</i>	0,863	0,040	0,936	0,072	0,060	-	-	-

Полученные результаты биохимических исследований, отражающие функционирование органа детоксикации, также свидетельствуют о том, что в крови крыс после двухнедельного введения соединения с лабораторным шифром d02-139 увеличивается уровень щелочной фосфатазы на 32% в сравнении с показателями в интактной группе.

Исходя из табл. 3 и табл. 4, после 14-дневного внутрижелудочного введения новых производных цианогиацетамида с высокой анальгетической активностью животным опытных групп с лабораторными шифрами d02172 и d02-123, не зарегистрированы отличия активности щелочной фосфатазы в сравнении с таковыми у крыс интактной группы.

Активность изучаемой трансаминазы в крови животных после приема парацетамола в сравнении с интактными крысами возросла на 30%. После двухнедельного введения нимесулида активность аланинаминотрансферазы увеличилась на 35% в сравнении со значениями этого показателя у крыс интактной группы (табл. 5).

Наиболее выраженное влияние на уровень аланинаминотрансферазы оказал новый образец - гетероциклическое соединение с шифром d02-149, поскольку его хроническое действие привело увеличению показателя на 31% в сравнении с интактными значениями.

Крысы опытных групп, получавшие в эксперименте соединения с лабораторными шифрами d02-123 и d02-139, не имели достоверных различий с таковыми у интактных крыс по уровню аланинаминотрансферазы в крови.

Таблица 5 - Активность аланинаминотрансферазы в сыворотке крови

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.140.69.10>

Группы животных	Шифр	X _{ср} , Е/мл	Me, Е/мл	S, Е/мл	V, %	* <i>p</i> -критерий
Интактная	x1	14,0	14,2	1,98	14,1	0,83
Индометацин	x2	15,9	16,0	1,63	10,2	0,86
Парацетамол	x3	18,2	17,5	5,01	27,5	0,24
Ацетилсалициловая кислота	x4	13,5	14,0	2,05	15,2	0,13
Нимесулид	x5	18,9	20,4	5,03	26,6	0,24
d02-123	x6	13,0	13,1	1,34	10,3	0,57
d02-133	x7	16,4	17,8	4,34	26,4	0,22
d02-139	x8	13,8	13,5	1,63	11,8	0,90
d02-149	x9	20,8	20,0	3,46	16,6	0,27
d02-172	x10	17,0	15,9	4,48	26,3	0,46

Примечание: *если *p*-критерий больше уровня значимости $\alpha = 0,05$, то распределение является нормальным

На протяжении проводимого эксперимента по изучению хронической гепатотоксичности изучаемых новых дериватов цианотиоацетамида нами не зафиксированы признаки интоксикации. Аппетит животных был сохраненным, двигательная активность в норме, агрессивности и конфликтности не отмечено.

Исходя из полученных в опытах *in vivo* биохимических показателей крови животных, характеризующих состояние гепатоцитов, можно сделать вывод, что наиболее благоприятным для функционирования печени следует считать хроническое воздействие изучаемого производного цианотиоацетамида с шифром d02-123. Идентичные нормальным физиологическим значениям уровни общего билирубина, активности аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы после двухнедельного его введения в эффективных для анальгезии дозах свидетельствуют о сохранении целостности клеточных мембран гепатоцитов и отсутствии гепатотоксичности.

Таким образом, исследуемые пять новых оригинальных производных цианотиоацетамида с выраженными антиноцицептивными свойствами, вводимые ежедневно внутривентрикулярно в течение 14 суток в дозе 5 мг/кг, позволили выделить самое перспективное производное цианотиоацетамида, наиболее безопасное в плане гепатотоксичности – гетероциклическое соединение с лабораторным шифром d02-123.

Анализируя результаты проведенных экспериментальных исследований крови крыс, получавших новое производное цианотиоацетамида с лабораторным шифром 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), следует отметить, что уровень общего билирубина и щелочной фосфатазы в эксперименте исследования их хронической токсичности был на уровне нормальных значений и соответствовал уровню у интактных животных.

Заключение

Таким образом, из исследуемых пяти новых оригинальных производных цианотиоацетамида с выраженными болеутоляющими свойствами, вводимых ежедневно внутривентрикулярно в течение 14 суток в дозе 5 мг/кг, наиболее безопасным в плане воздействия на функционирование печени является соединение с лабораторным шифром d02-123.

Биохимический анализ крови крыс, получавших новые производные цианотиоацетамида с анальгетической активностью на протяжении 2 недель с шифром d02-149, свидетельствует о его гепатотоксичности. Полученные данные представляют практический интерес в контексте доклинических исследований новых высокоэффективных и безопасных лекарственных средств.

Финансирование

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.

Funding

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. Конакова А. В. Последствия чрезмерного приема нестероидных противовоспалительных препаратов / А. В. Конакова, К. А. Кушакова // *Инновации. Наука. Образование*. — 2021. — 46. — с. 2182-2187.
2. Ханмурзаева Н. Б. Комплексный подход к терапии боли / Н. Б. Ханмурзаева, С. Б. Ханмурзаева // *Доброхотовские чтения*. — 2019. — 46. — с. 124-128.
3. Абызбаева А. С. Сравнение эффективности использования нестероидных противовоспалительных препаратов в различных географических районах / А. С. Абызбаева, Г. К. Байкосова, С. А. Буреева // *Молодежь и медицинская наука*. — 2019. — 36. — с. 4-7.
4. Дроздов В. Н. НПВП-повреждения желудочно-кишечного тракта: новые возможности профилактики гастро- и энтеропатий / В. Н. Дроздов, Ю. В. Мещеряков, С. Ю. Сереброва // *Медицинский совет*. — 2019. — 21. — с. 158-166.
5. Ребров А. П. Боль, нестероидные противовоспалительные препараты и хроническая болезнь почек: непростые взаимоотношения / А. П. Ребров // *Южно-Российский журнал терапевтической практики*. — 2022. — 3(2). — с. 25-31.
6. Ронжина А. К. Действие нестероидных противовоспалительных средств на функцию почек / А. К. Ронжина, З. И. Хасанова, Е. М. Маркова // *Авиценна*. — 2020. — 63. — с. 4-7.
7. Кривоколыско Д.С. Синтез, строение и анальгетическая активность этиловых эфиров 4-((4-(2-фурил)-5-циано-1,4-дигидропиридин-3-ил) карбоксамидо) бензойной кислоты / Д.С. Кривоколыско, В.В. Доценко, Е.Ю. Бибики // *Журнал общей химии*. — 2022. — 1(92). — с. 72-91.
8. 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. — 7. — p. 1524-1553.
9. Mishra A. P. 1,4-Dihydropyridine: A Dependable Heterocyclic Ring with the Promising and the Most Anticipable Therapeutic Effects / A. P. Mishra, A. Bajpai, A.K. Rai // *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. — 2019. — 15. — p. 1219-1254.
10. Bibik E.Yu. Study of Analeptic Activity of Tetrahydropyrido [2,1-b] [1,3,5] Tiadiazine Derivatives / E.Yu. Bibik, A.A. Saphonova, A.V. Yeryomin // *Research Results in Pharmacology*. — 2017. — 3(4). — p. 20-25.

11. Биби́к Е.Ю. Антиноцицептивные свойства новых производных конденсированных 3-аминотиено[2,3-в]пиридинов и 1,4-дигидропиридинов в эксперименте / Е.Ю. Биби́к, И.А. Некраса, А. В. Деменко // Бюллетень сибирской медицины. — 2019. — 18(3). — с. 21-28.
12. Биби́к Е. Ю. Оценка соматической боли в формалиновом тесте при использовании новых серосодержащих производных ди- и тетрагидропиридинов / Е. Ю. Биби́к, А. В. Мязина, Д. С. Кривоколыско // Научно-практический журнал «Заметки Ученого». — 2021. — 13. — с. 94-102.
13. Gfeller D. Shaping the Interaction Landscape of Bioactive Molecules / D. Gfeller, O. Michielin, V. Zoite // *Bioinformatics*. — 2023. — 29(23). — p. 3073-3079.
14. Биби́к Е. Ю. Исследование новых производных 1, 4-дигидропиридина как потенциальных средств с болеутоляющей активностью в тесте орофациальной тригеминальной боли: экспериментальное доклиническое рандомизированное исследование / Е. Ю. Биби́к, И. С. Олейник, А. А. Панков // Кубанский научный медицинский вестник. — 2023. — 2. — с. 64-75.
15. Биби́к И. В. Определение острой пероральной токсичности тетрагидропиридонов и гексагидрохинолинов, производных α -цианогиоацетамида / И. В. Биби́к // Курский научно-практический вестник «Человек и здоровье». — 2019. — 4. — с. 96-103.
16. Наркевич А. Н. Методы определения минимально необходимого объема выборки в медицинских исследованиях / А. Н. Наркевич, К. А. Виноградов // Социальные аспекты здоровья населения. — 2019. — 65(6).
17. Миронов А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А. Н. Миронов — М.: Гриф и К., 2012. — 941 с.
18. Агаянц И.М. Азы статистики в мире химии: Обработка экспериментальных данных / И.М. Агаянц — Санкт-Петербург: Научная организация труда, 2015. — 618 с.
19. Петри А. Наглядная статистика в медицине / А. Петри, К. Сэбин — Москва: Гэотар-Медиа, 2000. — 144 с.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Konakova A. V. Posledstviya chrezmernogo priema nesteroidnykh protivovospalitel'nykh preparatov [The Consequences of Excessive Intake of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs] / A. V. Konakova, K. A. Kushakova // *Innovation. Science. Education*. — 2021. — 46. — p. 2182-2187. [in Russian]
2. Hanmurzaeva N. B. Kompleksnyj podhod k terapii boli [A Comprehensive Approach to Pain Therapy] / N. B. Hanmurzaeva, S. B. Hanmurzaeva // *Dobrokhотовские Readings*. — 2019. — 46. — p. 124-128. [in Russian]
3. Abyzbaeva A. S. Sravnenie effektivnosti ispol'zovaniya nesteroidnykh protivovospalitel'nykh preparatov v razlichnykh geograficheskikh rajonah [Comparison of the Effectiveness of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs in Different Geographical Areas] / A. S. Abyzbaeva, G. K. Bajkosova, S. A. Bureeva // *Youth and Medical Science*. — 2019. — 36. — p. 4-7. [in Russian]
4. Drozdov V. N. NPVP-povrezhdeniya zheludочно-kishechnogo trakta: novye vozmozhnosti profilaktiki gastro- i enteropatij [NSAIDs-Damage to the Gastrointestinal Tract: New Possibilities for the Prevention of Gastro- and Enteropathy] / V. N. Drozdov, Ju. V. Mescherjakov, S. Ju. Serebrova // *Medical Advice*. — 2019. — 21. — p. 158-166. [in Russian]
5. Rebrov A. P. Bol', nesteroidnye protivovospalitel'nye preparaty i hronicheskaja bolezn' pochek: neprostye vzaimootnosheniya [Pain, Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs and Chronic Kidney Disease: an Uneasy Relationship] / A. P. Rebrov // *South Russian Journal of Therapeutic Practice*. — 2022. — 3(2). — p. 25-31. [in Russian]
6. Ronzhina A. K. Dejstvie nesteroidnykh protivovospalitel'nykh sredstv na funktsiju pochek [The Effect of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs on Kidney Function] / A. K. Ronzhina, Z. I. Hasanova, E. M. Markova // *Avicenna*. — 2020. — 63. — p. 4-7. [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) benzoinoj kisloty [Synthesis, Structure and Analgesic Activity of Ethyl Esters of 4-({4-(2-furyl)-5-cyano-1,4-dihydropyridine- 3-yl} carboxamido) Benzoic Acid] / D.S. Krivokolysko, V.V. Dotsenko, E.Ju. Bibik // *Journal of General Chemistry*. — 2022. — 1(92). — p. 72-91. [in Russian]
8. 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. — 7. — p. 1524-1553.
9. Mishra A. P. 1,4-Dihydropyridine: A Dependable Heterocyclic Ring with the Promising and the Most Anticipable Therapeutic Effects / A. P. Mishra, A. Bajpai, A.K. Rai // *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. — 2019. — 15. — p. 1219-1254.
10. Bibik E.Yu. Study of Analeptic Activity of Tetrahydropyrido [2,1-b] [1,3,5] Tiadiazine Derivatives / E.Yu. Bibik, A.A. Saphonova, A.V. Yeryomin // *Research Results in Pharmacology*. — 2017. — 3(4). — p. 20-25.
11. Bibik E.Ju. Antinotsitseptivnye svojstva novyh proizvodnykh kondensirovannykh 3-aminotieno[2,3-в]пиридинов и 1,4-дигидропиридинов в эксперименте [Antinociceptive Properties of New Derivatives of Condensed 3-aminothieno[2,3-b]pyridines and 1,4-dihydropyridines in an Experiment] / E.Ju. Bibik, I.A. Nekrasa, A. V. Demenko // *Bulletin of Siberian Medicine*. — 2019. — 18(3). — p. 21-28. [in Russian]
12. Bibik E. Ju. Otsenka somaticheskoy boli v formalinovom teste pri ispol'zovanii novyh serosoderzhaschih proizvodnykh di- i tetragidropiridinov [Assessment of Somatic Pain in the Formalin Test Using New Sulfur-Containing Derivatives of di- and tetrahydropyridines] / E. Ju. Bibik, A. V. Mjazina, D. S. Krivokolysko // *Scientific and Practical Journal "Notes of a Scientist"*. — 2021. — 13. — p. 94-102. [in Russian]
13. Gfeller D. Shaping the Interaction Landscape of Bioactive Molecules / D. Gfeller, O. Michielin, V. Zoite // *Bioinformatics*. — 2023. — 29(23). — p. 3073-3079.
14. Bibik E. Ju. Issledovanie novyh proizvodnykh 1, 4-digidropiridina kak potentsial'nykh sredstv s boleutoljajuschej aktivnost'ju v teste orofatsial'noj trigeminal'noj boli: eksperimental'noe doklinicheskoe randomizirovannoe issledovanie

[Investigation of New Derivatives of 1,4-dihydropyridine as Potential Agents with Analgesic Activity in the Orofacial Trigeminal Pain Test: an experimental preclinical randomized trial] / E. Ju. Bibik, I. S. Olejnik, A. A. Pankov // Kuban Scientific Medical Bulletin. — 2023. — 2. — p. 64-75. [in Russian]

15. Bibik I. V. Opredelenie ostroj peroral'noj toksichnosti tetragidropiridonov i gekzagidrohinochinov, proizvodnyh α -tsianoatsetamida [Determination of Acute Oral Toxicity of Tetrahydropyridones and Hexahydroquinolines, Derivatives of α -cyanothioacetamide] / I. V. Bibik // Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and Health". — 2019. — 4. — p. 96-103. [in Russian]

16. Narkevich A. N. Metody opredelenija minimal'no neobhodimogo ob'ema vyborki v meditsinskih issledovanijah [Methods for Determining the Minimum Required Sample Size in Medical Research] / A. N. Narkevich, K. A. Vinogradov // Social Aspects of Public Health. — 2019. — 65(6). [in Russian]

17. Mironov A. N. Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv [Guidelines for Conducting Preclinical Studies of Medicines] / A. N. Mironov — M.: Grif i K. , 2012. — 941 p. [in Russian]

18. Agajants I.M. Azy statistiki v mire himii: Obrabotka eksperimental'nykh dannykh [The Basics of Statistics in the World of Chemistry: Processing experimental data] / I.M. Agajants — St. Petersburg: Scientific Organisation of Labour, 2015. — 618 p. [in Russian]

19. Petri A. Nagljadnaja statistika v meditsine [Visual Statistics in Medicine] / A. Petri, K. Sebin — Moskva: Geotar-Media, 2000. — 144 p. [in Russian]