

УДК 612.822.014.46

ИССЛЕДОВАНИЕ АНАЛГЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ 1,5-БЕНЗОДИАЗЕПИНОН-2 И ЕГО НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ

Епишкин И.В., Коренюк.И.И., Чертаев И.В.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: igor.epishkin2013@yandex.ua*

В условиях тестов «горячая пластина» и «горячая вода» исследовано влияние 1,5-бензодиазепинон-2и его трех новых производных 4-метил-1,5-бензодиазепинон-2, 3-метил-1,5-бензодиазепинон-2,5-формил-1,5-бензодиазепинона-2при внутрибрюшинном введении в дозах 5, 25 и 50 мг/кг на болевой порог. Проведено сравнение полученных эффектов тестируемых веществ с фармпрепаратом анальгином. Показано, что из четырех исследованных соединений лишь1,5-бензодиазепинона-2увеличивалболевой порог у крыс, который превышает эффект анальгина.

Ключевые слова: 1,5-бензодиазепинон-2, аналгетический эффект, горячая вода, горячая пластина.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема боли и поиска новых обезболивающих средств среди новосинтезированных веществ является актуальнымнаправлением научных исследованийв медицине и спорте. Одним из перспективных путей борьбы с болью является разработка способов активации антиноцептивной системы [1]. При этом известно, что использование бензодиазепинов в лечении болевых синдромов [2], обосновано их анксиолитическим действием в сочетании с опосредованным аналгетическим эффектом. Известно также, что некоторые из широко используемых аналгетиков обладают побочным действием. Например, запрещенный в 70 странах мира – анальгин обладает рядом побочных эффектов и повышает риск развития осложнений (агранулоцитоз, анафилактический и сосудистый шок) [3, 4].

В связи с этим целью исследования было выявить среди новых производных 1,5-бензодиазепинон-2 соединений, обладающих аналгетическими свойствами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование аналгетической активности осуществляли на 5 группах крыс по 10 особей в каждой. Болевой порог во всех тестах измеряли и сравнивали сна контрольной группой крыс, которой однократно за 30 мин до начала тестирования внутрибрюшинно вводилисьфизиологический раствор. Опытным крысам инъецировали анальгин в дозе 5 мг/кг или растворы исследуемых соединений в дозах 5, 25 и 50 мг/кг. Все растворы веществ вводили в объеме 0,2 мл.

Противобололевые эффекты соединений определяли в следующих тестах «горячая вода» и «горячая пластина», методика которых детально приведена в публикациях [5, 6].

При выполнении экспериментов придерживались нормы и принципы, утвержденных постановлением I национального конгресса с биоэтики (Киев, 2001), Законом Украины № 3447-VI «Про защиту животных от жестокого обращения» от 21.02.2006 г. с изменениями от 15.12.2009 г.

Экспериментальные данные до и после воздействия веществ сравнивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни ($p \leq 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты теста «горячая вода». При системном введении исследуемых производных наблюдалось дозозависимость их действия. При этом, с увеличением доз 1,5-бензодиазепинон-2 (1,5-БД), 3-метил-1,5-бензодиазепинон-2 (3-метил-1,5-БД) и 4-метил-1,5-бензодиазепинон-2 (4-метил-1,5-БД) противобололевые эффекты снижались, а в случае 5-формил-3-метил-1,5-бензодиазепинон-2 (5-формил-1,5-БД) – наоборот, усиливались (рис.1).

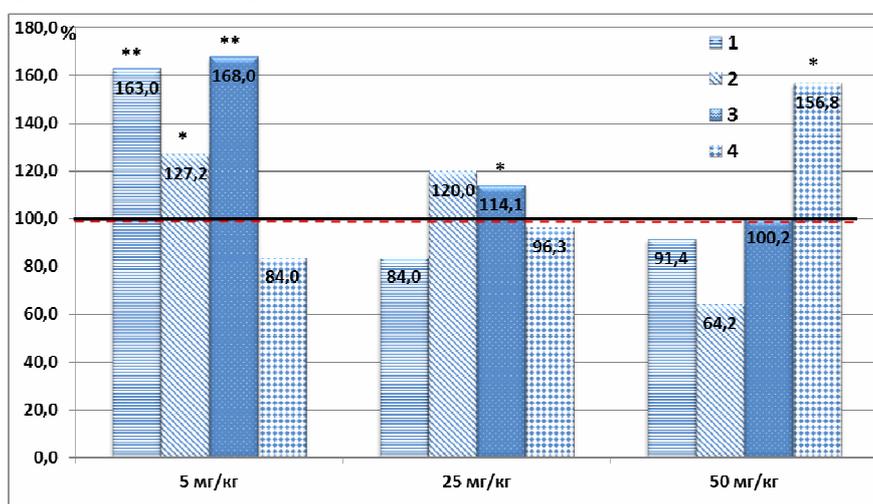


Рис. 1. Влияние 5 мг/кг анальгина и разных доз 1,5-бензодиазепинон-2(1), 4-метил-1,5-бензодиазепинон-2(2), 3-метил-1,5-бензодиазепинон-2(3) и 4-метил-1,5-бензодиазепинон-2(4) на латентный период болевой реакции в тесте «горячая вода».

*Примечание:** – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$, где p - уровень достоверности по отношению к контролю. Жирной линией обозначены контрольные показатели (за 100%), а пунктирной – эффект анальгина в дозе 5 мг/кг.

Из рис. 1 видно, что 1,5-БД, 4-метил-1,5-БД и 3-метил-1,5-БД в дозе 5 мг/кг по сравнению с контролем достоверно увеличивали на 63,0, 27,2 и 68,0 % соответственно латентный период (ЛП) болевой реакции. По сравнению с эффектами анальгина и 5-формил-1,5-БД, то они снижали ЛП болевой реакции на

16,0 и 1,2 % соответственно, что, по мнению некоторых авторов [5] расценивается как усиление восприятия боли.

При применении тестируемых веществ в дозе 25 мг/кг их эффекты были меньше выражены, чем при использовании в дозе 5 мг/кг. Так, 4-метил-1,5-БД и 3-метил-1,5-БД увеличивали на 20,0 и 14,1 % соответственно ЛП болевой реакции, а 1,5-БД и 5-формил-1,5-БД, наоборот, снижали на 16,0 и 6,7 % соответственно.

Из тестируемых соединений только 5-формил-1,5-БД в дозе 50 мг/кг по сравнению с контролем достоверно увеличивал на 56,8 % ЛП болевой реакции, а 1,5-БД и 4-метил-1,5-БД снижали по сравнению с контролем на 8,6 и 35,8% ЛП и почти в 2 раза по сравнению с дозой 5 мг/кг. Эффект 3-метил-1,5-БД был на уровне контроля (рис. 1). По-видимому, наблюдаемый анальгетический эффект 5-формил-1,5-БД в дозе 50 мг/кг связан с перенасыщением пре- или постсинаптических ГАМК-БД-рецепторов мембраны нейронов, что приводит к гиперполяризации и угнетению передачи болевых импульсов.

На основе анализа результатов этого теста можно заключить, что 1,5-БД и его три производные в тестируемых дозах обладают анальгетическими свойствами, максимальная выраженность которых проявляется в дозе 5 мг/кг.

Следует отметить, что в данном тесте анальгин не проявил себя как анальгетик, так как снижал ЛП. Мы склонны думать, что либо данная модель не является чувствительной для проявления противоболевых свойств препарата, либо в дозе 5 мг/кг противоболевые свойства анальгина не проявляются. Поскольку при использовании данной модели болевого стресса не удалось сравнить эффективность исследуемых соединений с действием эталонного обезболивающего препарата – анальгина, было решено провести тестирование веществ в тестах «горячая пластина».

Результаты теста «горячая пластина». Поскольку анальгин в дозе 5 мг/кг по сравнению с контролем увеличивал ЛП болевой реакции почти в 2 раза, из этого следует, что тест является чувствительным для этого эталонного препарата. Из рис.2 видно, что противоболевые эффекты 4-метил-1,5-БД, 3-метил-1,5-БД и 5-формил-1,5-БД в данном тесте имели дозозависимый характер действия.

После инъекции крысам 1,5-БД, 4-метил-1,5-БД и 3-метил-1,5-БД в дозе 5 мг/кг по сравнению с контролем достоверно увеличивался ЛП болевой реакции на 136,5; 21,4 и 52,4 % соответственно. При этом 5-формил-1,5-БД снижал ЛП на 11,0 %, что свидетельствует об усилении болевой чувствительности [6]. Следует отметить, что лишь анальгетический эффект 1,5-БД превосходил действие анальгина в дозе 5 мг/кг на 38,5 %.

При инъекции 1,5-БД в дозе 25 мг/кг наблюдалось ещё большее увеличение ЛП болевой реакции по сравнению с контролем выше в 3,5 раз ($p \leq 0,01$), а по сравнению с эффектами анальгина в 1,5 раза. При этом 3-метил-1,5-БД увеличивал по сравнению с контролем ЛП болевой реакции на 31,0 %, а 4-метил-1,5-БД, наоборот, снижал его (на 15,9 %). А 5-формил-1,5-БД увеличивал ЛП по отношению к контролю на 6,3%.

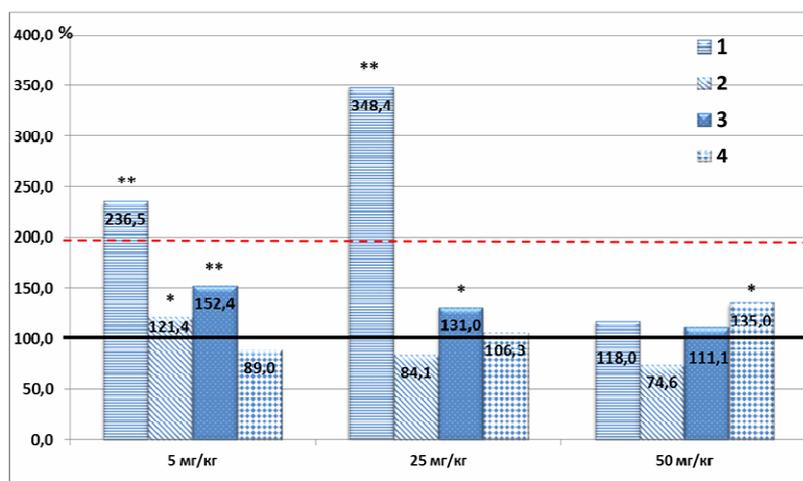


Рис. 2. Влияние 5 мг/кг анальгина и разных доз 1,5-бензодиазепинон-2 (1), 4-метил-1,5-бензодиазепинон-2 (2), 3-метил-1,5-бензодиазепинон-2 (3) и 4-метил-1,5-бензодиазепинон-2 (4) на латентный период болевой реакции в тесте «горячая пластина».

Обозначения такие же, как на рисунке 1.

Исследование болевой реакции 1,5-БД и его производных в дозе 50 мг/кг показали самые низкие результаты по сравнению с предыдущими дозами (рис. 2). Так, 1,5-БД, 3-метил-1,5-БД и 5-формил-1,5-БД увеличивали ЛП болевой реакции на 18,0; 11,1 и 35,0 % соответственно, а 4-метил-1,5-БД снижал ЛП на 25,4 %.

Таким образом, 1,5-БД и 3-метил-1,5-БД проявляют анальгетическую активность во всех исследуемых дозах в тесте «горячая пластина», а 4-метил-1,5-БД только в дозе 5 мг/кг и 5-формил-1,5-БД только в 50 мг/кг. При этом лишь противоболевые эффекты 1,5-БД в дозах 5 и 25 мг/кг превосходили действие анальгина 5 мг/кг.

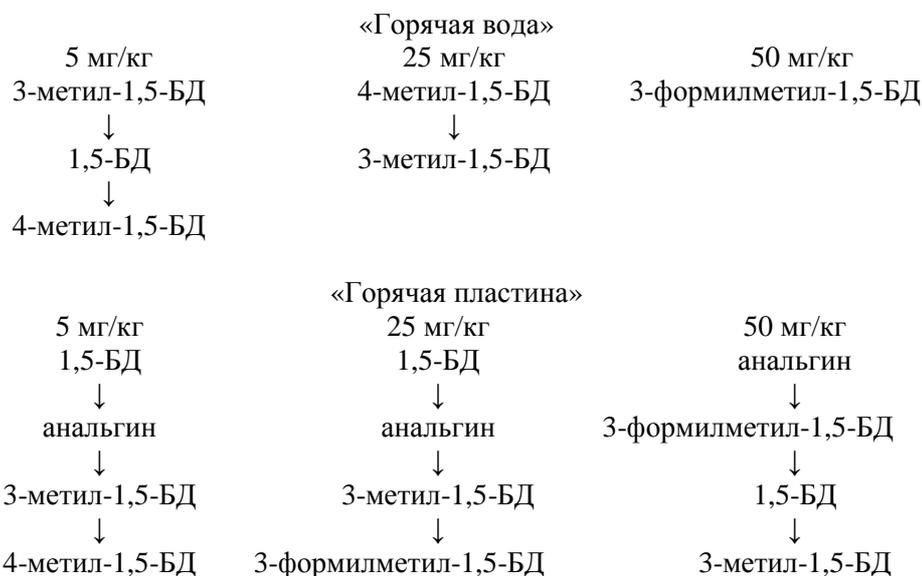
Следует сказать, что в температурных тестах «горячая вода» и «горячая пластина» выявлена дозозависимость действия производных 1,5-БД. Так 4-метил-1,5-БД и 3-метил-1,5-БД с увеличением доз снижали ЛП, а 5-формил-1,5-БД, наоборот, увеличивал (см. рис. 1 и 2).

Таким образом, эффекты 1,5-БД и его трех синтезированных производных по данным тестов «горячая пластина» и «горячая вода» существенно различаются. По-видимому, обезболивающий эффект исследуемых соединений обусловлен разными механизмами. Мы склонны думать, что выявленные нами анальгетические эффекты 1,5-БД и его производных так же, как и у 1,4-БД, опосредуются через ГАМК_A-рецепторы в интегративных центрах ЦНС, угнетая процесс синаптической передачи ноцицептивной информации [7]. Исходя из того, что в тестах мы имели возможность оценить степень действия 1,5-БД и трех его производных на спинальном (отдергивание хвоста – болевой спинальный рефлекс) и супраспинальном уровнях [8], мы полагаем, что исследуемые вещества вероятнее всего оказывают тормозное действие на одну из главных супрасегментарных зон восприятия и переработки ноцицептивного афферентного потока – ретикулярную

формацию ствола головного мозга [7]. При этом известно, что через связи ретикулярной формации с гипоталамусом, базальными ядрами и лимбическим мозгом реализуется нейроэндокринный и мотивационный аффективный компонент боли [7], вызывает чувство спокойствия и изменяет эмоциональную окраску боли.

Увеличение ЛП болевой реакции в температурных тестах может быть обусловлено снижением под влиянием 1,5-БД интенсивности синаптической передачи сигналов между нейронами первого-второго порядка в задних рогах спинного мозга. Есть предположение, что БД снижает активность пресинаптических рецепторов NMDA первичных афферентных окончаний с одновременным снижением выработки вещества Р [9]. А поскольку есть мнение [9], что опосредованные боли могут возникать при участии АТФ, через P2X рецепторы открывают лиганд-управляемые каналы в мембране сенсорных нейронов. Возможно, что БД ингибируют эту систему, затрудняя проницаемость мембраны ноцицептивных нейронов для Na^+ и Ca^{2+} , и повышает их проницаемость мембраны для Cl^- и K^+ приводя, таким образом, к гиперполяризации мембраны нейронов.

В отношении снижения противоболевой активности исследованных веществ в разных тестах с учетом дозы и в сопоставлении с эффектами анальгина их можно распределить в следующем порядке:



По силе анальгетического действия, исследованные вещества можно расположить в следующем порядке:

в тесте «горячая вода»:

3-метил-1,5-БД > 1,5-БД > 3-формилметил-1,5-БД > 4-метил-1,5-БД

в тесте «горячая пластина»:

1,5-БД > анальгин > 3-метил-1,5-БД > 3-формил-1,5-БД > 4-метил-1,5-БД

Исходя из этого, есть основания считать, что среди тестированных соединений только 1,5-БД имеет перспективу дальнейшего изучения в качестве лекарственного средства, которое сможет заменить запрещенные анальгетики. Следует отметить, что в предыдущих наших исследованиях у 1,5-БД, 3-метил-1,5-БД и 4-метил-1,5-БД в тесте «электростимуляция» противоболевые эффекты превосходили действие анальгина. Таким образом, более выраженные противоболевые свойства 1,5-БД по сравнению с анальгином не вызывают сомнения, тогда как эффекты 3-метил-1,5-БД и 4-метил-1,5-БД требуют дальнейшего изучения.

ВЫВОДЫ

1. Выявлено, что 1,5-БД проявил анальгетические эффекты в дозах 5 и 25 мг/кг, превосходящие действие анальгина.
2. Производные 4-метил-1,5-БД и 3-метил-1,5-БД требуют дальнейшего изучения.

Список литературы

1. Савохина М.В. Исследование анальгетической активности метакрукса. / М.В.Савохина // Теорет. і експ. медицина, медицина сьогодні і завтра. –2008. – № 4. –С. 15–17.
2. Бурчинский С.Г. Анксиолитики в лечении хронических психогенных болевых синдромов. / С.Г.Бурчинский // Междисциплинарные проблемы. На заметку доктору. – 2007. – С. 46
3. Ушкалова Е.А. Проблемы безопасности Анальгина. [Огляд.] / Е.А. Ушкалова // Здоров'я України. Клінічна фармакологія.– 2009р. –№17(222). – С.46-47.
4. Юлиш Е.И. Безопасная альтернатива Анальгину в педиатрии. / Е.И. Юлиш // Клінічні лекції. – 2012. – №2(37). – С.111-114
5. Лебедева Н.Е. Эффекты фентанила в сверхмалых дозах. / Н.Е. Лебедева, Т.В.Головкина, Е.Н.Горбатова // Химическая и биологическая безопасность. – 2003.– № 9–10. – С. 7–8.
6. Ахметова Г.С. Синтез и фармакологические свойства нового гомолога отечественного производства оригинального анальгезирующего лекарственного средства Просидол. / [Г.С. Ахметова, А.К. Амантаева, К.Д. Пралиевы др.] // Изв. Томск.политех. унив. – 2010. – Т. 317, № 3. – С.140–143.
7. Павленко А.Ю. Болевой синдром: патофизиологические механизмы развития и методы воздействия на этапах оказания медицинской помощи / А.Ю. Павленко, А.А.Хижняк // Медицина неотлож. состояний. – 2006. – №1. – С. 29–39.
8. Северьянова Л.А. Влияние L-аргинина на электрокожную и температурную болевую чувствительность у крыс. / [Л.А. Северьянова, И.И. Бобынцев, Н.А. Кирьяноваи др.]// Курский научно-практ. вестник "Человек и его здоровье", Экспер. Биол. и Мед. – 2005.– № 2.–С.44–49
9. Ганонг В.Ф. Фізіологія людини: Підручник / [В.Ф. Ганонг, М. Гжегоцький, В. Шевчук и др.] – Львів: БаК, 2002. – 784 с.

Епішкін І.В. Дослідження анальгетичної активності 1,5-бензодіазепінона-2 та його деяких похідних / І.В. Епішкін, І.І. Коренюк., І.В. Черетаєв // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2012. – Т. 25 (64), № 4. – С. 42-48.

В умовах тестів «гаряча пластина» та «гаряча вода» досліджено вплив 1,5-бензодіазепінон-2 і його трьох нових похідних: 4-метил-1,5-бензодіазепінон-2, 3-метил-1,5-бензодіазепінон-2,5-форміл-1,5-бензодіазепінон-2 при системному введенні шурам в дозах 5, 25 і 50 мг/кг на больовий поріг. Проведено порівняння ефектів тестованих речовин з фармпрепаратом анальгін. Показано, що з чотирьох досліджених сполук тільки 1,5-бензодіазепінон-2 збільшував латентний період больової реакції у шурів, який перевищував ефект анальгину.

Ключові слова: 1,5-бензодіазепінон-2, анальгетичний ефект, гаряча вода, гаряча пластина.

Epishkin I.V. Research activity analgesic 1,5- benzodiazepinona-2 and some of its derivatives / I.V. Epishkin ,I.I. Korenyuk, I.V. Cheretayev // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2012. – Vol. 25 (64), No 4. – P. 42-48.

In the test of the "hot plate" and "hot water" The effect of 1,5-benzodiazepinon-2 and three new derivatives of 4-methyl-1,5-benzodiazepinon-2, 3-methyl-1,5-benzodiazepinon-2 and 5-formyl-1,5-benzodiazepinon-2 intraperitoneal doses of 5, 25 and 50 mg / kg on the threshold of pain. A comparison of the effects of the tested substances analginum pharmaceuticals. Shows that of the four compounds tested only 1,5 benzodiazepinon-2 increased the pain threshold in rats, which exceeds the effect of analginum.

Keywords: 1,5-benzodiazepinon-2, analgesic effect, hot water, hot plate.

Поступила в редакцию 12.11.2012 г.