

**УДК 612.159:615.3**

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОТИВОБОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ  
1-ГИДРОКСИ-1,1-ЭТИЛИДЕНДИФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ,  
БИС(2-ПИРИДИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛИЛ-3)ПРОПАНА И ИХ АДДУКТА У  
САМЦОВ КРЫС (ЧАСТЬ 2)**

*Черетаев И. В., Раваева М. Ю., Джелдубаева Э. Р., Чуюн Е. Н., Шульгин В. Ф.,  
Шейхмамбетов Н., Палаевская М. В.*

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный  
университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия  
E-mail: cheretaev86@yandex.ru*

В статье представлены результаты сравнительного анализа противоболевой активности 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты, бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана и их аддукта в дозах 5, 50, 100 и 200 мг/кг у самцов крыс. Эксперименты проведены на 150 лабораторных крысах-самцах линии Вистар в тест-моделях острой термической («tail-flick», «hot plate») и механической боли (тест Рэндалла-Селитто). Показано, что аддукт 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана превосходит по противоболевой активности 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновую кислоту в тесте «tail-flick» в дозах 50, 100 и 200 мг/кг; в тесте Рэндалла-Селитто – в дозах 5, 50, 100 и 200 мг/кг; в тесте «hot plate» – в дозе 50 мг/кг. Бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропан уступает исследуемому аддукту в тесте «tail-flick» в дозе 100 мг/кг; в тесте Рэндалла-Селитто – в дозах 50, 100 и 200 мг/кг; в тесте «hot plate» – в дозах 5, 50 и 200 мг/кг.

**Ключевые слова:** 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновая кислота, бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропан, аддукт, болевая чувствительность, анальгетический эффект, перцептуальный компонент боли, механическая боль, спинальный и супраспинальный механизмы регуляции боли.

## **ВВЕДЕНИЕ**

В предыдущей публикации [1] было показано, что 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновая кислота (ГДК), бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропан (БТП) и их аддукт (ГДК+БТП) в различных дозах в диапазоне от 5 до 200 мг/кг существенно изменяют болевую чувствительность крыс-самцов, повышая её пороги, и в определённых дозах оказывают анальгетический эффект с участием различных механизмов регуляции боли (спинальный и супраспинальный уровни регуляции боли, перцептуальный компонент боли, механическая болевая чувствительность).

Существенный интерес представляет проведение у самцов крыс сравнительной оценки противоболевых эффектов новосинтезированного соединения – ГДК+БТП – и его исходных компонентов (ГДК и БТП), послуживших для дальнейшего химического синтеза ГДК+БТП. Это позволит понять насколько

новосинтезированное вещество (ГДК+БТП) превосходит и или уступает по противоболевой активности своим химическим предшественникам (ГДК и БТП).

Цель работы – провести сравнительный анализ влияния противоболевых эффектов ГДК, БТП и ГДК+БТП на болевую чувствительность самцов крыс в диапазоне доз от 5 до 200 мг/кг.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Дизайн эксперимента, использовавшееся оборудование, экспериментальные и статистические методы детально описаны в работе [1].

Для сравнительной оценки эффектов БТП+ГДК, ГДК и БТП на основании результатов, полученных в работе [1], рассчитывали коэффициенты противоболевой активности (КПА) ГДК+БТП относительно эффектов ГДК ( $KPA_{ГДК+БТП/ГДК}$ ) и БТП ( $KPA_{ГДК+БТП/БТП}$ ) в процентах относительно контроля по формулам:

$$KPA_{ГДК+БТП/ГДК} = (ГДК+БТП (\%) - ГДК (\%)) / ГДК (\%)$$

$$KPA_{ГДК+БТП/БТП} = (ГДК+БТП (\%) - БТП (\%)) / БТП (\%)$$

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

**Сравнительный анализ противоболевой активности аддукта 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана относительно эффектов 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты.**

Как видно из рис. 1, ГДК+БТП в тесте «tail-flick» проявлял менее выраженную противоболевую активность по сравнению с ГДК в дозе 5 мг/кг, что отражалось в снижении  $KPA_{ГДК+БТП/ГДК}$  в сторону отрицательных значений. Однако в диапазоне доз от 50 до 200 мг/кг ГДК+БТП, наоборот, оказывал более выраженный противоболевой эффект по сравнению с ГДК, сила которого возрастала с увеличением дозы, что проявлялось в соответствующем увеличении  $KPA_{ГДК+БТП/ГДК}$  относительно нуля (рис. 1, А). Это свидетельствует согласно методической интерпретации используемого теста [2–4] о том, что ГДК+БТП в указанных дозах более эффективно, чем ГДК, снижает болевую чувствительность с участием перцептуального компонента и спинального механизма регуляции боли.

В тесте Рэндалла-Селитто ГДК+БТП, показывающем механическую болевую чувствительность [5], во всём диапазоне исследуемых доз (5-200 мг/кг) оказался более эффективным анальгетиком, чем ГДК, увеличивая  $KPA_{ГДК+БТП/ГДК}$  относительно нуля и проявляя наибольшую противоболевую активность в дозе 100 мг/кг. То есть данное соединение более эффективно снижает механическую болевую чувствительность самцов крыс.

В тесте «hot plate» (рис. 1, А), отражающем вклад в болевую чувствительность супраспинального механизма её регуляции [6–8], напротив, ГДК оказалась более эффективным противоболевым средством в дозах 5, 100 и 200 мг/кг, чем ГДК+БТП ( $KPA_{ГДК+БТП/ГДК}$  в зависимости от увеличения дозы снижался относительно нуля с увеличением дозы). Только в дозе 50 мг/кг ГДК+БТП оказался более эффективным анальгетиком с участием супраспинального механизма регуляции боли по

сравнению с ГДК, так как КПА  $_{ГДК+БТП/ГДК}$  возрастал в области положительных значений.

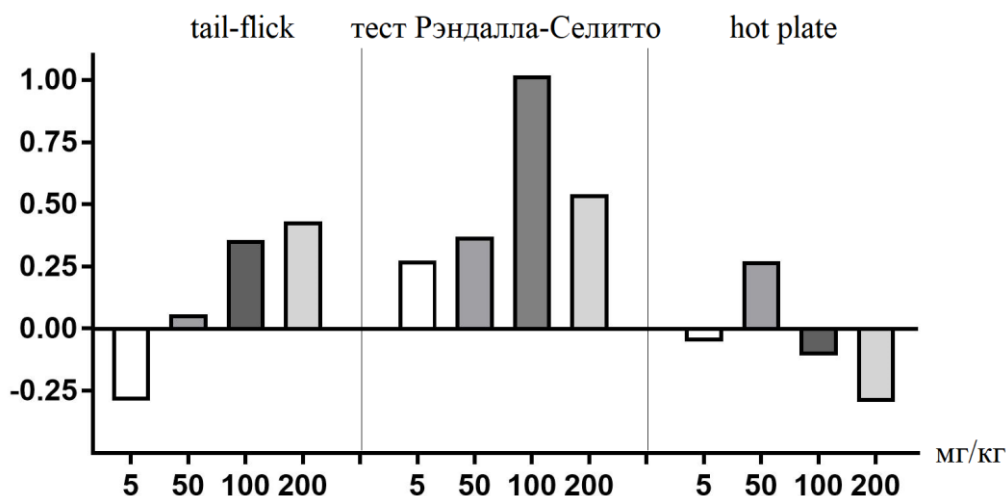


Рис. 1. Коэффициент противоболевой активности аддукта 1-гидрокси-1,1-этилендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазилил-3)пропана относительно эффектов 1-гидрокси-1,1-этилендифосфоновой кислоты на болевую чувствительность крыс-самцов в тестах «tail-flick», Рэндалла-Селитто и «hot plate».

**Сравнительный анализ противоболевой активности аддукта 1-гидрокси-1,1-этилендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазилил-3)пропана относительно эффектов бис(2-пиридил-1,2,4-триазилил-3)пропана.**

По сравнению с БТП, соединение ГДК+БТП в тесте «tail-flick» в дозе 100 мг/кг оказывал выраженную противоболевую активность с участием перцептуального компонента и спинального механизма боли (согласно методическим рекомендациям проведения данного теста [2–4], значительно повышая КПА  $_{ГДК+БТП/ГДК}$  относительно нуля (рис 2, Б).

В тесте механической болевой чувствительности Рэндалла-Селитто [4] ГДК+БТП в дозах 50, 100 и 200 мг/кг (рис. 2, Б) оказался более эффективным анальгетиком, чем БТП, увеличивая КПА  $_{ГДК+БТП/ГДК}$  относительно нуля и проявляя наибольшую противоболевую активность в дозе 100 мг/кг. Данное вещество в указанных дозах более эффективно, чем БТП, снижало механическую болевую чувствительность у самцов крыс.

В тесте «hot plate» (рис. 2, Б), отражающем участие в болевой чувствительности супраспинального механизма её регуляции [6–8], аддукт ГДК+БТП в дозах 5, 50 и 200 мг/кг оказался более эффективным анальгетиком, чем БТП, так как КПА  $_{ГДК+БТП/БТП}$  увеличивался относительно нуля. То есть аддукт ГДК+БТП обладал более выраженной противоболевой активностью с участием супраспинального уровня регуляции боли.

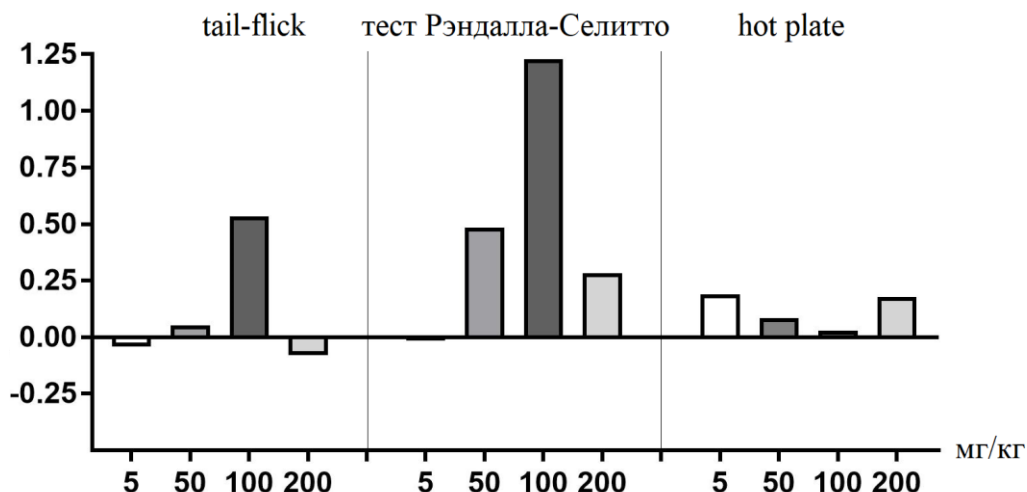


Рис. 2. Коэффициент противоболевой активности аддукта 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана относительно эффектов бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана на болевую чувствительность крыс-самцов в тестах «tail-flick», Рэндалла-Селитто и «hot plate».

Таким образом, ГДК+БТП значительно превосходил по противоболевой активности БТП в тесте «tail-flick» в дозе 100 мг/кг, увеличивая анальгезию за счёт перцептуального компонента и спинального механизма регуляции боли; в тесте Рэндалла-Селитто – в дозах 50, 100 и 200 мг/кг, снижая механическую болевую чувствительность; в тесте «hot plate» – в дозах 5, 50 и 200 мг/кг с участием супраспинального механизма регуляции боли. ГДК+БТП в тесте «tail-flick» в дозах 5 и 200 мг/кг незначительно уступал по противоболевой активности БТП (перцептуальный компонент и спинальный механизм регуляции боли).

В целом можно сказать, что соединение ГДК+БТП превосходило по противоболевой активности ГДК в тесте «tail-flick» в дозах 50, 100 и 200 мг/кг, усиливая анальгезию за счёт перцептуального компонента и спинального механизма регуляции боли; в тесте Рэндалла-Селитто – в дозах 5, 50, 100 и 200 мг/кг, снижая механическую болевую чувствительность; в тесте «hot plate» – в дозе 50 мг/кг с участием супраспинального механизма регуляции боли. При этом, данное вещество уступало по противоболевой активности ГДК в тесте «tail-flick» в дозе 5 мг/кг (перцептуальный компонент и спинальный механизм регуляции боли) и в тесте «hot plate» – в дозах 5, 100 и 200 мг/кг (супраспинальный механизм регуляции боли).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаружено, что аддукт 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана в определённых дозах по противоболевой активности превосходит либо уступает своим компонентам предшественникам – 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоте и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропану:

1. Аддукт 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана превосходит по противоболевой активности 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновую кислоту в тесте «tail-flick» в дозах 50, 100 и 200 мг/кг, усиливая анальгезию за счёт перцептуального компонента и спинального механизма регуляции боли; в тесте Рэндалла-Селитто – в дозах 5, 50, 100 и 200 мг/кг, снижая механическую болевую чувствительность; в тесте «hot plate» – в дозе 50 мг/кг с участием супраспинального механизма регуляции боли. При этом данное вещество уступает по противоболевой активности 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоте в тесте «tail-flick» в дозе 5 мг/кг (перцептуальный компонент и спинальный механизм регуляции боли) и в тесте «hot plate» – в дозах 5, 100 и 200 мг/кг (супраспинальный механизм регуляции боли).
2. Аддукт 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана значительно превосходит по противоболевой активности бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропан в тесте «tail-flick» в дозе 100 мг/кг, увеличивая анальгезию за счёт перцептуального компонента и спинального механизма регуляции боли; в тесте Рэндалла-Селитто – в дозах 50, 100 и 200 мг/кг, снижая механическую болевую чувствительность; в тесте «hot plate» – в дозах 5, 50 и 200 мг/кг с участием супраспинального механизма регуляции боли. Аддукт 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана в тесте «tail-flick» в дозах 5 и 200 мг/кг незначительно уступал по противоболевой активности бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропану (перцептуальный компонент и спинальный механизм регуляции боли).

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 18-13-00024 «Координационные соединения дифосфонатов металлов со спейсеризованными 1,2,4-триазолами как основа новых гибридных материалов и лекарственных препаратов» на экспериментальном оборудовании центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» кафедры физиологии человека и животных и биофизики Таврической академии (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского».*

#### Список литературы

1. Влияние 1-гидрокси-1,1-этилидендифосфоновой кислоты, бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)пропана и их аддукта на болевую чувствительность самцов крыс (часть 1) / И. В. Черетаев, М. Ю. Раваева, Э. Р. Джелдубаева [и др.]. // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология, химия. – 2019. – Т. 5 (71), № 2. – С. 162–175.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А. Н. Миронов, Н. Д. Бунатян, А. Н. Васильев [и др.]. – Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
3. Determination of Adrenergic and Imidazoline Receptor Involvement in Augmentation of Morphine and Oxycodone Analgesia by Clonidine and BMS182874 / Gulati A., Bhalla S., Matwyshyn G. [et al.]. // Pharmacology. – 2011. – Vol. 83. – P. 45–58.

- Xu F. The neurotoxicity of intrathecal lidocaine is enhanced in postpartum compared to virgin rats / F. Xu, B. Zhang, T. Li // *Fundam Clin Pharmacol.* – 2013. – Vol. 27, № 4. – P. 427–433.
- Randall L. O. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue / L. O. Randall, J. J. Selitto // *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* – 1957. – Vol. 111 (4). – P. 409–419.
- Woolfe G. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol) / G. Woolfe, A. D. Macdonald // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1944. – Vol. 80, № 3. – P. 300–307.
- Влияние L-аргинина на электрокожную и температурную болевую чувствительность у крыс / Л. А. Северьянова, И. И. Бобынцева, Н. А. Кирьянова [и др.]. // *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье».* – 2005. – № 2. – С. 44–49.
- Василенко А. М. Корреляции болевой чувствительности и гуморального иммунного ответа у мышей при термораздвожении / А. М. Василенко, О. Г. Яновский, О. В. Коптелов // *Бюлл. exper.-мед.* – 1995. – № 4. – С. 405–408.

### **COMPARATIVE ANALYSIS OF ANALGESIC ACTIVITY OF 1-HYDROXY-1,1-ETHYLIDENEDIPHOSPHONE ACID, BIS(2-PYRIDYL-1,2,4-TRIAZOLYL-3)PROPANE AND THEIR ADDUCT IN RATS (PART 2)**

***Cheretaev I. V., Ravaeva M. Yu., Dzheldubaeva E. R., Chuyan E. N., Shulgin V. F.,  
Sheichmambetov N., Palaevskaya M. V.***

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia  
E-mail: cheretaev86@yandex.ru*

The article presents the results of a comparative analysis of the analgesic activity of 1-hydroxy-1,1-ethylidene diphosphonic acid, bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane and their adduct in doses of 5, 50, 100 and 200 mg / kg in male rats.

The aim of the work is to conduct a comparative analysis of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid, bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane and their adduct analgesic effects on the pain sensitivity of male rats in the dose range from 5 to 200 mg/kg.

The studies were performed on 150 white laboratory rats-males of the Wistar line ("FSUE Nursery of laboratory animals "Rappolovo") weighing 180-200 g (5 groups of 10 animals each) kept in standard vivarium conditions at a temperature of 18 - 22 ° C in the understytle "Rehofix MK 2000" (based on corn cobs) with a natural 12-hour light-dark cycle, free access to water and (GOST 33215-2014 "Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for equipping premises and organizing procedures") and complete granulated feed in accordance with GOST R-50258-92. Previously, in the open field test, animals were selected with an average level of motor activity and a low level of emotionality (for this purpose, an infrared actimeter and the software of Actitrack 2.0 from Pan Lab Harvard Apparatus, Spain) were used.

In the experiment with each substance, 50 male rats took part (150 animals in total). Animals of each experimental series were divided into 5 groups of 10 animals. Since the effects of 3 substances (1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid, bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane and their adduct) were studied in the experiment, a total of 3

experimental series with a single intraperitoneal the introduction of the substance. In each series of the experiment, animals of one group were control and received intraperitoneally injections of 0.2 ml of saline and were in standard vivarium conditions, the remaining experimental groups received 0.2 ml of intraperitoneal injections of the test substance in doses of 5, 50, 100 and 200 mg / kg respectively. Testing the parameters of pain sensitivity in rats was carried out 1 hour after injection in models of acute painful stress "tail-flick", Randall-Selitto ("forceps") and "hot plate". Before the "tail-flick" and Randall-Selitto tests, after injections, the animals were placed in special fixers for rats (NPK Open Science, Russia).

For a comparative assessment of the effects of adduct of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane, 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane, we calculated the coefficients of analgesic activity relative to the effects of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane as a percentage of control.

The adduct of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane superior in analgesic activity of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid in the test "tail-flick" in doses of 50, 100 and 200 mg/kg, increasing analgesia at the expense of the perceptual component and a spinal mechanism for the regulation of pain; in the test of Randall-Selitto – in doses of 5, 50, 100 and 200 mg/kg, reducing mechanical pain sensitivity; in the test "hot plate" in a dose of 50 mg/kg, with the participation of supraspinal mechanism for the regulation of pain. At the same time, this substance is inferior to the analgesic activity of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid in the "tail-flick" test at a dose of 5 mg/kg (perceptual component and spinal pain regulation mechanism) and in the "hot plate" test – in doses of 5, 100 and 200 mg/kg (supraspinal pain regulation mechanism).

The adduct of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane are significantly more analgesic activity of bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane in the test "tail-flick" in a dose of 100 mg/kg, increasing analgesia at the expense of the perceptual component and a spinal mechanism for the regulation of pain; in the test of Randall-Selitto – in doses of 50, 100 and 200 mg/kg, reducing mechanical pain sensitivity; in the test "hot plate" – in doses of 5, 50 and 200 mg/kg, with the participation of supraspinal mechanism for the regulation of pain. The adduct of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane in the "tail-flick" test at doses of 5 and 200 mg/kg was slightly inferior in analgesic activity of BTP (perceptual component and spinal pain regulation mechanism).

Thus, it has been found that the adduct of 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane in certain doses in anti-pain activity exceeds or is inferior to its precursor substances – 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane.

**Keywords:** 1-hydroxy-1,1-ethylidenediphosphonic acid, bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)propane, adduct, pain sensitivity, analgesic effect, perceptual pain component, mechanical pain, spinal and supraspinal pain regulation.

### References

1. Cheretaev I. V., Ravaeva M. Yu., Dzheldubaeva E. R., Chuyan E. N., Shul'gin V. F., Shejhmambetov N., Palaevskaya M. V., Vliyanie 1-gidroksi-1,1-etilidendifosfonovoj kisloty, bis(2-piridil-1,2,4-triazolil-3)propana i ih addukta na bolevuyu chuvstvitel'nost' samcov krys (chast 1), Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo. *Biologiya, himiya.*, **5 (71)**, 2, 162 (2019).
2. Mironov A. N., Bunatjan A. D., Vasil'ev A. N. i dr., *Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennyh sredstv*. Ch. 1. 944 s. (Moskva: Grif i K, 2012).
3. Gulati A., Bhalla S., Matwyshyn G., Zhang Z., Andurkar S.V., Determination of Adrenergic and Imidazoline Receptor Involvement in Augmentation of Morphine and Oxycodone Analgesia by Clonidine and BMS182874, *Pharmacology*, **83**, 45 (2011).
4. Xu F., Zhang B., Li T., The neurotoxicity of intrathecal lidocaine is enhanced in postpartum compared to virgin rats, *Pharmacology*, **27**, **4**, 427 (2013).
5. Randall L. O., Selitto J. J., A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue, *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, **111 (4)**, 409 (1957).
6. Woolfe G., Macdonald A. D., The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol), *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **80**, **3**, 300 (1944).
7. Sever'yanova L. A., Bobynceva I. I., Kir'yanova N. A., Dolginceva M. E., Vliyanie L-arginina na elektrokozhnuyu i temperaturную bolevuyu chuvstvitel'nost' u krys, *Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik «Chelovek i ego zdorov'e»*, **2**, **44**, 2005.
8. Vasilenko A. M., Yanovskij O. G., Koptelev O. V., Korrelyacii bolevoj chuvstvitel'nosti i gumoral'nogo immunnogo otveta u myshej pri termorazdrozhenii, *Byull. eksper.-med.*, **4**, 405 (1995).