

УДК 615.212.7

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-1-54-62>

Риск развития лекарственной зависимости при применении нового анальгетика на основе производного гексаазаизовюрцитана (экспериментальное исследование)

Крылова С.Г.¹, Поветьева Т.Н.¹, Лопатина К.А.¹, Нестерова Ю.В.¹, Зуева Е.П.¹,
Афанасьева О.Г.¹, Киселева Е.А.¹, Кульпин П.В.¹, Сулов Н.И.¹, Кулагина Д.А.²,
Сысолятин С.В.², Жданов В.В.¹

¹ Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины (НИИФирМ) имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук им. Е.Д. Гольдберга

Россия, Россия, 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3

² Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (НИИХЭТ СО РАН)

Россия, 659322, Алтайский край, г. Бийск, ул. Социалистическая, 1

РЕЗЮМЕ

Целью данного исследования явилось изучение вероятности развития синдрома отмены, вызываемого прекращением 5-суточного введения тиовюрцина по схеме с провокацией налоксоном в эксперименте.

Материалы и методы. Объект исследования экспериментальный образец анальгетика «Тиовюрцин, капсула 120 мг». Активная фармацевтическая субстанция представляет собой органическое низкомолекулярное соединение 4-(3,4-дибромтиофенкарбонил)-2,6,8,12-тетраацетил-2,4,6,8,10,12гексаазатетрацикло [5,5,0,0^{3,11},0^{5,9}]додекан, синтезированное впервые по результатам компьютерного моделирования в ИПХЭТ СО РАН (г. Бийск).

Возможность развития физической зависимости исследовали при введении тиовюрцина и референс-препарата трамадола *per os* 2 раза/сут в течение 5 сут по схеме: 1) в 9.00 – тиовюрцин 50 мг/кг и трамадол 10 мг/кг, в 15.00 – тиовюрцин 50 мг/кг и трамадол 10 мг/кг соответственно; 2) в 9.00 – тиовюрцин 50 мг/кг и трамадол 10 мг/кг, в 15.00 – тиовюрцин 75 мг/кг и трамадол 15 мг/кг; 3) в 9.00 – тиовюрцин 75 мг/кг и трамадол 15 мг/кг, в 15.00 – тиовюрцин 75 мг/кг и трамадол 15 мг/кг, 4) в 9.00 – тиовюрцин 100 мг/кг и трамадол 20 мг/кг, в 15.00 – тиовюрцин 100 мг/кг и трамадол 20 мг/кг; 5) в 9.00 – тиовюрцин 100 мг/кг и трамадол 20 мг/кг, в 15.00 – налоксон в дозе 10 мг/кг подкожно.

Во всех группах интенсивность синдрома отмены изучали по специфическим признакам у аутобредных мышей-самцов сток CD1. На протяжении 1-го ч после введения налоксона регистрировали основные компоненты абстиненции и рецессивные признаки легкого течения синдрома отмены. Через 2 ч после инъекции налоксона определяли число мышей с отрицательным привесом массы тела. Через 24 ч после отмены тестируемых веществ исследовали степень воздействия на структуру поведения животных (горизонтально-вертикальную двигательную и исследовательскую активности, эмоциональность и ее вегетативные проявления) в тесте «открытое поле», наличие анальгетического действия в тесте «Горячая пластина» (55°). Критерием выраженности синдрома отмены считали уменьшение числа прыжковых реакций, изменение общего состояния животных, стимулирование двигательной активности, проявление гипералгезии, снижение массы тела у мышей.

Результаты. «Доминантных» компонентов абстиненции и рецессивных признаков синдрома отмены у животных из групп введения тиовюрцина не зафиксировано. Совокупность полученных данных (ориентировочно-исследовательское поведение, двигательная активность, эмоциональность по ее вегетативным проявлениям, груминг и т.д.) позволяет заключить, что тиовюрцин после отмены 5-суточного введения

✉ Крылова Светлана Геннадьевна, krylova5935@gmail.com

по схеме с провокацией налоксоном не вызывает развития физической зависимости в отличие от референс-препарата трамадола. Выявлено позитивное растормаживающее действие анальгетика за счет активации ориентировочно-исследовательского компонента поведения (стресс новизны) в условиях теста «открытое поле». Отсутствовало проявление гиперальгезии у животных в тесте «горячая пластина». Изменения массы тела животных, получавших тиовюрцин, не наблюдалось.

Заключение. Представленные результаты свидетельствуют о том, что тиовюрцин не является наркотическим анальгетиком. Он не проявляет побочных эффектов, типичных для обезболивающих средств с опиоидным компонентом механизма действия (трамадол), прежде всего развития физической зависимости и формирования синдрома отмены. В подтверждение вышесказанного проведенные ранее исследования *in vivo* и *in silico* (докинг, молекулярное моделирование, моделирование молекулярной динамики) мульти-таргетного механизма действия тиовюрцина объясняют отсутствие его морфиноподобного действия тем, что основными мишенями анальгетика являются TRPA1-рецепторы и потенциал-зависимые Ca²⁺ионные каналы. Полученные выводы позволяют с высокой степенью вероятности прогнозировать отсутствие лекарственной зависимости при клиническом применении тиовюрцина, а выявленное ранее отсутствие гастротоксичности предполагает возможность использования анальгетика продолжительными курсами при хроническом болевом синдроме.

Ключевые слова: гексаазазовюрцитан, тиовюрцин, анальгетическая активность, синдром отмены, физическая зависимость, налоксон, трамадол

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках реализации Государственного контракта № 14.N08.11.0179 (прикладные научные исследования и экспериментальные разработки для государственных нужд).

Соответствие принципам этики. Содержание животных и дизайн экспериментов были одобрены биоэтическим комитетом НИИФирМ им. Е.Д. Гольдберга (протокол JACUC № 96092015 от 16.09.2015) и соответствовали Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях; приказу МЗ РФ № 199н от 01.09.2016.

Для цитирования: Крылова С.Г., Поветьева Т.Н., Лопатина К.А., Нестерова Ю.В., Зуева Е.П., Афанасьева О.Г., Киселева Е.А., Кульпин П.В., Суслов Н.И., Кулагина Д.А., Сысолятин С.В., Жданов В.В. Риск развития лекарственной зависимости при применении нового анальгетика на основе производного гексаазазовюрцитана (экспериментальное исследование). *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(1):54–62. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-1-54-62>.

Risk of developing drug abuse in administration of a new hexaazaisowurtzitan derivative-based analgesic (experimental study)

Krylova S.G.¹, Pove'teva T.N.¹, Lopatina K.A.¹, Nesterova Yu.V.¹, Zueva E.P.¹, Afanas'eva O.G.¹, Kulpin P.V.¹, Kiseleva E.A.¹, Suslov N.I.¹, Kulagina D.A.², Sysolyatin S.V.², Zhdanov V.V.¹

¹ Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences (RAS)
3, Lenina Av., Tomsk, 634028, Russian Federation

² Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (IPCET SB RAS)
1, Sotsialisticheskaiia Str., Biysk, Altai Region, 659322, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of the study was to assess the probability of developing withdrawal syndrome caused by discontinuation of 5-day administration of thiowurtzine with naloxone challenge test in the experiment.

Materials and methods. The test sample of the analgesic “Thiowurtzine, capsule 120 mg” served as the study object. The active pharmaceutical ingredient is an organic, low molecular weight compound 4-(3,4-dibromothiophene

carbonyl)-2,6,8,12-tetraacetyl-2,4,6,8,10,12-hexaazatetracyclo [5,5,0,0^{3,11},0^{5,9}]dodecane that was first synthesized according to computer modeling results at the IPCET SB RAS (Biysk).

The likelihood of developing physical dependence was explored by *per os* administration of thiwurtzine and the reference drug tramadol twice a day for 5 days as follows: 1) at 9 a.m. – thiwurtzine 50 mg / kg and tramadol 10 mg / kg, at 3 p.m. – thiwurtzine 50 mg / kg and tramadol 10 mg / kg; 2) at 9 a.m. – thiwurtzine 50 mg / kg and tramadol 10 mg / kg, at 3 p.m. – thiwurtzine 75 mg / kg and tramadol 15 mg / kg; 3) at 9 a.m. – thiwurtzine 75 mg / kg and tramadol 15 mg / kg, at 3 p.m. – thiwurtzine 75 mg / kg and tramadol 15 mg / kg; 4) at 9 a.m. – thiwurtzine 100 mg / kg and tramadol 20 mg / kg, at 3 p.m. – thiwurtzine 100 mg / kg and tramadol 20 mg / kg; 5) at 9 a.m. – thiwurtzine 100 mg / kg and tramadol 20 mg / kg, at 3 p.m. – naloxone 10 mg / kg subcutaneously.

In all the groups, the intensity of the withdrawal syndrome was studied by specific features in outbred male CD1 mice. During one hour following the naloxone injection, health of mice was assessed according to dominant abstinence components and recessive traits of mild withdrawal syndrome. Two hours after the naloxone injection, the number of mice with negative body weight gain was determined. 24 hours after discontinuation of test compound administration, the open-field test was used to determine the impact on animal behavioral patterns (horizontal and vertical motor and exploratory activity, emotionality and its vegetative manifestations). The hot plate test was carried out to measure the analgesic activity (55°). The criterion of the withdrawal syndrome severity was a decrease in the number of jumping reactions, changes in the general condition of the animals, stimulation of motor activity, manifestations of hyperalgesia, and a decrease in body weight.

Results. No dominant abstinence components and recessive signs of withdrawal syndrome were detected in animals from the thiwurtzine groups. The data obtained in the study (orientation and exploratory behavior, motor activity, emotionality and its vegetative manifestations, grooming, etc.) allow to conclude that thiwurtzine causes no physical dependence in animals after discontinuation of its 5-day administration with naloxone challenge test, as opposed to the reference drug naloxone. A positive disinhibition effect of this analgesic was revealed due to the activated orientation and exploratory behavior (stress caused by the new environment) in the conditions of the open-field test. The animals showed no manifestations of hyperalgesia in the hot plate test. The animals treated with thiwurtzine did not demonstrate any changes in the body weight.

Conclusion. The obtained results prove that thiwurtzine is a non-narcotic analgesic. It evokes no side effects typical of opioid analgesics (tramadol), including development of physical dependence and withdrawal syndrome following naloxone challenge test. Previous *in vivo* and *in silico* studies (docking, molecular modeling, molecular dynamics simulation) on the multi-target mechanism of thiwurtzine explain the absence of its morphine-like effect by the fact that the major targets of the analgesic are TRPA1 receptors and voltage-gated Ca²⁺ channels. With a high degree of probability, the conclusions made herein predict no drug abuse development when thiwurtzine is used in the clinical setting. Absence of ulcerotoxicity found earlier will enable to administer thiwurtzine in long-term cycles for chronic pain syndrome.

Keywords: hexaazaisowurtzitane, thiwurtzine, analgesic activity, withdrawal syndrome, physical dependence, naloxone, tramadol

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was carried out within the state contract No. 14.N08.11.0179 (applied scientific research and experimental development for state needs).

Conformity with the principles of ethics. Animal care and use and experiment design were approved by the Bioethics Committee at Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine (JACUC protocol No. 96092015 of 16.09.2015) and complied with the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council of the European Union on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes and the order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 199n of 01.09.2016.

For citation: Krylova S.G., Pove'teva T.N., Lopatina K.A., Nesterova Yu.V., Zueva E.P., Afanas'eva O.G., Kulpin P.V., Kiseleva E.A., Suslov N.I., Kulagina D.A., Sysolyatin S.V., Zhdanov V.V. Risk of developing drug abuse in administration of a new hexaazaisowurtzitane derivative-based analgesic (experimental study). *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):54–62. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-1-54-62>.

ВВЕДЕНИЕ

Многие острые и хронические заболевания, травмы и медицинские вмешательства сопряжены с болью, резко снижающей качество жизни и требующей применения обезболивающих средств. По данным

экспертов Международной ассоциации по изучению боли, около 20% человечества страдает от хронического болевого синдрома в результате низкой эффективности симптоматической терапии. По статистике, в России количество онкологических больных и людей с диагнозом инфаркта миокарда и ишемической

болезни сердца, пациентов с различными травмами составляет в год до 13 млн. В связи с вышесказанным анальгетики для лечения сильных и очень сильных болей различной этиологии (включая хронические) и антагонисты опиатов представляют собой стратегически важные категории лекарственных средств [1–3]. Между тем, по оценкам самих анестезиологов и экспертов-аналитиков российского фармрынка, медицинские потребности в противоболевых препаратах нового поколения (усовершенствованные опиоиды, комбинированные анальгетики и др.) обеспечены не более чем на 10%. Кроме того, существующая проблема побочных эффектов (гастро-, нефро-, гепато-, кардио-, гематотоксичность, тератогенность, мутагенность, развитие физического и психологического привыкания) по-прежнему имеет важное медико-социальное значение в связи с высокой доступностью и уровнем потребления обезболивающих средств различных групп [1–3]. Все вышесказанное определяет необходимость поиска, создания и введения в практику принципиально новых малотоксичных анальгетиков, действующих на молекулярные механизмы генерации боли.

В настоящее время в НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ продолжают доклинические исследования инновационного анальгетика (далее – тиовюрцин, TWZ) на основе производного 2,4,6,8,10,12гексаазатетрацикло[5,5,0,0^{3,11},0^{5,9}] додекана (гексаазаизовюрцитана) для терапии болевого синдрома различного генеза. Выявлено, что экспериментальный образец «Тиовюрцин, капсула 120 мг» обладает низким профилем токсичности, доза ЛД₅₀ находится в пределах 150–5 000 мг/кг (3-й класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76). Выявленная анальгетическая активность продемонстрирована в условиях термического ноцицептивного теста «горячая пластина», модели острой висцеральной и соматически глубокой боли «уксусные корчи», хемогенной модели болевой реакции «формалиновый тест», модели на чувствительность рецепторов TRPV1 «капсаициновый тест», модели «механическое раздражение лапы мыши» (Rendal-Selitto test) [4, 5]. Использование специфических фармакологических анализаторов позволило предположить участие κ-опиоидной системы, TRP-рецепторов в реализации антиноцицептивного действия тиовюрцина с вероятным влиянием на серотонин- и ГАМКергические структуры центральной нервной системы, каналы кальция (Ca²⁺) T-типа 6, 7]. Выявленный мультитаргетный механизм анальгетического действия тиовюрцина реализуется на различных уровнях восприятия, проведения и модуляции ноцицептивной активности, что определяет необходимость исследова-

ния возможности развития лекарственной зависимости в результате курсового применения лекарственного средства.

Целью данного исследования явилось изучение вероятности развития синдрома отмены, вызываемого прекращением 5-суточного введения тиовюрцина по схеме с провокацией налоксоном в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 60 аутбредных самцах мышей стока CD1 (масса 20,5 г; возраст 7–8 нед), 1-й категории, конвенциональных. Животные получены из отдела экспериментального биомоделирования НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ (сертификат здоровья животных). Содержание животных и дизайн экспериментов были одобрены биоэтической комиссией НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (протокол JACUC № 96092015 от 16.09.2015) и соответствовали Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях; ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» от 01.08.2015.

Распределение на группы осуществляли рандомизированно, используя в качестве критерия массу тела (±10%). Мышей выводили из эксперимента кранио-цервикальной дислокацией. Объектом исследования является экспериментальный образец «Тиовюрцин, капсула 120 мг». Активная фармацевтическая субстанция представляет собой органическое низкомолекулярное соединение 4-(3,4-дибромтиофенкарбонил)-2,6,8,12-тетраацетил-2,4,6,8,10,12 гексааза-тетрацикло[5,5,0,0^{3,11},0^{5,9}]додекан, впервые синтезированное по результатам компьютерного моделирования в Институте проблем химико-энергетических технологий СО РАН (г. Бийск) [5]. Проведенное ранее исследование анальгетической активности тиовюрцина позволило определить эффективную терапевтическую дозу соединения 100 мг/кг для внутрижелудочного пути введения [5, 7].

Для оценки синдрома отмены тиовюрцин и препарат сравнения – трамадола гидрохлорид (ОАО «Органика», Россия), вводили *per os* 2 раза/сут (утром и вечером) в течение 5 сут по схеме: 1) в 9.00 – тиовюрцин 50 мг/кг и трамадол 10 мг/кг, в 15.00 – тиовюрцин 50 мг/кг и трамадол 10 мг/кг; 2) в 9.00 – тиовюрцин 50 мг/кг и трамадол 10 мг/кг, в 15.00 – тиовюрцин 75 мг/кг и трамадол 15 мг/кг; 3) в 9.00 – тиовюрцин 75 мг/кг и трамадол 15 мг/кг, в 15.00 – тиовюрцин 75 мг/кг и трамадол 15 мг/кг; 4) в 9.00 – тиовюрцин 100 мг/кг и трамадол 20 мг/кг, в 15.00 – тиовюрцин 100 мг/кг и трамадол 20 мг/кг; 5) в 9.00 – тиовюрцин

100 мг/кг и трамадол 20 мг/кг, в 15.00 – налоксон подкожно в дозе 10 мг/кг [8–10].

Налоксон (ОАО «Московская фармацевтическая фабрика», Россия) является неселективным антагонистом опиоидных рецепторов. Для проведения экспериментов животных распределяли на шесть групп. Группа 1: контроль (вода очищенная) по схеме. Группа 2: контроль (вода очищенная) по схеме + налоксон. Группа 3: тиовюрцин (декапсулированный) по схеме. Группа 4: тиовюрцин (декапсулированный) по схеме + налоксон. Группа 5: трамадол по схеме. Группа 6: трамадол по схеме + налоксон.

На протяжении 1-го ч после инъекции налоксона оценивали общее состояние мышей по доминантным компонентам абстинентного синдрома и рецессивным признакам легкого течения синдрома отмены (нарушение ушного и корнеального рефлексов, наличие судорог, корчей, тремора в виде «барабанного боя», птоза, прыжков, встряхиваний, стука зубами, синдрома Штраубе, чесания, чихания, бокового положения). Оценивали массу мышей при проведении процедуры рандомизации и через 2 ч после инъекции налоксона. Через 24 ч после отмены тестируемых веществ для определения степени воздействия на структуру поведения животных (эмоциональность, горизонтально-вертикальная двигательная и исследовательская активность) использовали тест «открытое поле» [8, 11]. Мышей помещали в центр установки открытого поля, затем на протяжении 2 мин у каждого животного фиксировали поведенческую активность: горизонтальную (число пересеченных квадратов); вертикальную (число стоек с опорой и без нее на край клетки); исследовательскую (количество заглядываний в отверстия); эмоциональную реакцию и ее вегетативные проявления (дефекацию); груминг.

Малоактивные животные с большей дефекацией в ситуации «открытого поля» считались более эмоциональными, чем те, которые много передвигались, но имели низкий уровень дефекации. Критерием седативного или стимулирующего действия считали статистически значимое изменение показателей горизонтальной и вертикальной двигательной активности. Исследование анальгетической активности проводили с помощью прибора HOT PLATE ANALGESIA METER (Columbus Instruments, США) при 55 °С. Фиксировали латентное время болевой реакции в виде облизывания задних лап, которое появляется у животных с достижением порога болевой чувствительности. Анальгетическую активность представляли в виде среднего латентного времени в группе, а критерием гиперальгезии считали статистически значимое увеличение латентного периода реакции после введения соединений [8].

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием программного обеспечения Statistica 6.0. Для всех данных рассчитаны среднее значение (\bar{X}) и стандартное отклонение (m), которые вместе со значением n (количество вариантов) представлены в итоговых таблицах. Межгрупповые различия проверялись с использованием непараметрического критерия Краскела – Уоллиса и Вилкоксона – Манна – Уитни (U), для сравнения частот использовали критерий углового преобразования Фишера (ϕ). Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$ [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В контрольной серии экспериментов при изучении синдрома отмены с провокацией налоксоном признаков физической зависимости не наблюдалось (табл. 1).

Таблица 1

Проявление рефлексов у аутбредных самцов мышей стока CDI после отмены введения тиовюрцина (50–100 мг/кг) и трамадола (10–20 мг/кг) по схеме с провокацией налоксоном (10 мг/кг п/к)						
Рефлекс	Контроль, $n = 10$	Контроль + налоксон, $n = 10$	Тиовюрцин, $n = 10$	Тиовюрцин + налоксон, $n = 10$	Трамадол, $n = 10$	Трамадол + налоксон, $n = 10$
	Количество животных с проявлением рефлексов, %					
Ушной	100	100	100	100	100	100
Корнеальный	100	100	100	100	100	100
Судороги	0	0	0	0	30*	20*
Тремор	0	0	0	0	20*	20*
Птоз	0	0	0	0	0	10
Прыжки	0	0	0	0	0	10
Встряхивание	0	0	0	0	20*	0
Стук зубами	0	0	0	0	0	0
Синдром Штраубе	0	0	0	0	0	20*
Чесание	100	100	100	100	100	100
Чихание	0	0	0	0	0	0
Боковое положение	0	0	0	0	0	0

* $p < 0,01$ по сравнению с контролем (по критерию Фишера).

У животных, получавших трамадол, регистрировали рецессивные признаки зависимости – тремор (20%), встряхивание (20%) и компонент абстинентного синдрома – судороги (30%) (см. табл. 1). На фоне введения трамадола по схеме налоксон вызывал не только признаки легкого течения синдрома отмены в виде встряхивания (20%), тремора «барабанный бой» (20%), птоза (10%), но и прыжковую активность (10%), синдром Штраубе (20%), судороги (20%), являющиеся «доминантными» компонен-

тами абстинентного синдрома. Тогда как у мышей, получавших тиовюрцин по схеме и в сочетании с налоксоном, отсутствовали все признаки физической зависимости.

Результаты изучения исследовательской активности животных в условиях теста «открытое поле» говорят о том, что тиовюрцин после введения по схеме на фоне налоксона не изменял количество вертикальных стоек и число заглядываний в отверстия за весь период наблюдения (табл. 2).

Таблица 2

Влияние курсового введения тиовюрцина по схеме в нарастающей дозировке (50–100 мг/кг) на структуру поведения самцов мышей стока CDI в тесте «открытое поле» на фоне отмены с провокацией налоксоном (10 мг/кг п/к), $X \pm m$							
Группа наблюдения (количество животных, $n = 10$)	Суммарная двигательная активность	Горизонталь- ная актив- ность	Вертикаль- ная актив- ность	Норковый рефлекс	Груминг	Дефекация	Коэффи- циент асимметрии
<i>1-я мин наблюдения</i>							
1. Контроль водный (по схеме)	42,3 ± 4,0	25,5 ± 2,9	3,1 ± 1,1	13,5 ± 1,9	0,2 ± 0,1	0 ± 0	60,6 ± 3,9
2. Контроль (по схеме) + налоксон	43,1 ± 3,8	28,3 ± 2,8	3,4 ± 0,8	10,7 ± 1,8	0,1 ± 0,1	0,6 ± 0,3	65,4 ± 3,1
3. Тиовюрцин (по схеме)	44,0 ± 4,2	30,3,4 ± 0,1	2,9 ± 0,7	10,9 ± 1,8	0 ± 0	0,2 ± 0,2	66,8 ± 4,1
4. Тиовюрцин (по схеме) + налоксон	54,1 ± 5,1*	35,0 ± 4,0*	4,0 ± 1,3	15,0 ± 1,5	0 ± 0	0,1 ± 0,1	63,5 ± 2,3
5. Трамадол (по схеме)	53,6 ± 4,8	37,0 ± 3,6*	4,6 ± 1,1	11,6 ± 1,7	0 ± 0	0,4 ± 0,3	69,3 ± 3,4
6. Трамадол (по схеме) + налоксон	38,2 ± 3,3 ⁺	25,3 ± 3,0 ⁺	1,9 ± 0,8 ⁺	10,5 ± 1,7	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0,1	65,8 ± 5,3
<i>2–3-я мин наблюдения</i>							
1. Контроль водный (по схеме)	73,3 ± 7,1	35,3 ± 4,1	6,5 ± 2,0	30,8 ± 4,1	0,6 ± 0,3	0,1 ± 0,1	48,6 ± 3,4
2. Контроль (по схеме) + налоксон	79,9 ± 5,6	40,1 ± 3,0	8,1 ± 1,6	30,3 ± 3,4	0,9 ± 0,3	0,5 ± 0,3	51,1 ± 3,6
3. Тиовюрцин (по схеме)	78,9 ± 9,0	45,7 ± 5,7	6,1 ± 1,0	26,0 ± 3,4	0,9 ± 0,2	0,2 ± 0,1	57,9 ± 3,3
4. Тиовюрцин (по схеме) + налоксон	96,9 ± 9,2*	52,3 ± 6,12*	6,5 ± 1,2	37,2 ± 3,7	0,5 ± 0,2	0,4 ± 0,4	53,8 ± 3,6
5. Трамадол (по схеме)	102,0 ± 12,1	53,9 ± 9,1	5,9 ± 1,2	41,5 ± 6,1	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,3	51,6 ± 4,2
6. Трамадол (по схеме) + налоксон	83,5 ± 9,45	48,7 ± 7,8	3,8 ± 1,0* [#]	30,2 ± 2,5	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2	49,5 ± 6,3
<i>Суммарный результат с 1-й по 3-ю мин наблюдения</i>							
1. Контроль водный (по схеме)	115,6 ± 10,3	60,8 ± 6,5	9,6 ± 2,9	44,3 ± 5,4	0,8 ± 0,3	0,1 ± 0,1	52,6 ± 2,7
2. Контроль (по схеме) + налоксон	123,0 ± 9,2	68,4 ± 5,1	11,5 ± 2,2	41,0 ± 4,7	1,0 ± 0,3	1,1 ± 0,6	56,1 ± 2,6
3. Тиовюрцин (по схеме)	122,9 ± 12,2	75,7 ± 8,3	9,0 ± 1,5	36,9 ± 5,0	0,9 ± 0,2	0,4 ± 0,3	61,1 ± 3,1
4. Тиовюрцин (по схеме) + налоксон	151,0 ± 12,8	87,3 ± 8,1*	10,5 ± 2,2	52,2 ± 4,2	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,5	58,0 ± 2,1
5. Трамадол (по схеме)	155,9 ± 15,6*	90,9 ± 11,7*	10,5 ± 2,1	53,1 ± 6,7	0,6 ± 0,2	0,8 ± 0,4	57,4 ± 2,5
6. Трамадол (по схеме) + налоксон	122,0 ± 12,2 ⁺	74,0 ± 10,6	5,7 ± 1,4* [#]	40,7 ± 3,7	0,7 ± 0,3	0,6 ± 0,3	66,9 ± 8,7

* $p < 0,05$ относительно водного контроля, [#] $p < 0,05$ относительно группы «Контроль + налоксон», ⁺ $p < 0,05$ относительно группы «Трамадол» (по критерию Вилкоксона – Манна – Уитни).

Кроме того, отсутствие статистически значимых изменений в показателях груминга и дефекации свидетельствует о том, что лекарственное средство не влияет на эмоциональный уровень животных. Следует отметить увеличение значения суммарной двигательной активности в 1,3 ($p < 0,05$) из-за повышения горизонтальной двигательной активности (по числу пересеченных квадратов) в 1,4 раза ($p < 0,05$) в 1-ю мин наблюдения, в 1,3 ($p < 0,05$) и 1,5 раза ($p < 0,05$) соответственно во 2–3-ю мин эксперимента относительно аналогичных данных контроля.

Выявленное умеренное стимулирующее влияние тиовюрцина на горизонтальную активность может объясняться активацией ориентировочно-исследо-

вательского поведения мышей, обусловленного его растормаживающим действием в структуре поведенческих реакций животных в условиях стресса новизны [8, 11]. Совокупность полученных данных по всем анализируемым показателям (горизонтальная, вертикальная и исследовательская активность, эмоциональность по ее вегетативным проявлениям, груминг и т.д.) позволяет утверждать об отсутствии формирования синдрома отмены. Напротив, статистически значимое снижение значений суммарной, горизонтальной и вертикальной двигательной активности мышей, получавших трамадол с налоксоном, относительно аналогичных показателей группы трамадола соответствовало критерию седативной

активности и свидетельствовало в пользу формирования синдрома отмены (см. табл. 2).

Данные, представленные в табл. 3, позволяют сделать вывод о развитии гипералгезии у животных, получивших инъекцию налоксона после прекращения введения трамадола, поскольку латентное время болевого ответа превышало таковой показатель группы трамадола в 1,2 раза ($p < 0,05$).

Фоновое значение угнетения болевой чувствительности тиовюрцина при однократном введении составляло 50% в тесте «горячая пластина», тогда как через 24 ч после отмены 5-суточного ведения анальгетика его антиноцицептивная активность оказалась статистически значимой и составила 23,9% относительно водного контроля (табл. 3). В аналогичный период наблюдения провокация налоксоном приводила к снижению активности тиовюрцина на 21% по сравнению с таковым эффектом вышеописанной группы, что позволяет сделать вывод об отсутствии развития гипералгезии у животных.

Таблица 3

Показатель массы тела аутбредных самцов мышей стока CD1 и антиноцицептивного ответа в тесте «горячая пластина» при синдроме отмены с провокацией налоксоном, $X \pm m$			
Группа животных (количество животных, $n = 10$)	Масса мышей, г		Латентное время развития болевой реакции, с
	до начала введения	после отмены введения	
1. Контроль, вода очищенная (по схеме)	25,5 ± 0,7	25,3 ± 0,9	17,6 ± 2,2
2. Контроль, вода очищенная (по схеме) + налоксон, 10	25,6 ± 0,5	25,7 ± 0,4	17,9 ± 2,0
3. Тиовюрцин (по схеме)	25,5 ± 0,6	26,2 ± 0,4	21,8 ± 2,7*
4. Тиовюрцин (по схеме) + налоксон, 10	25,6 ± 0,5	26,2 ± 0,5	17,2 ± 1,4
3. Трамадол (по схеме)	25,6 ± 0,5	25,5 ± 0,6	17,8 ± 1,3

* $p < 0,05$ относительно группы «Тиовюрцин + налоксон», # $p < 0,05$ относительно группы «Контроль + налоксон», + $p < 0,05$ относительно группы «Трамадол» (по критерию Вилкоксона – Манна – Уитни).

Масса тела экспериментальных животных является одним из важных показателей ветеринарного мониторинга в длительно продолжающемся эксперименте, поскольку может свидетельствовать об общем неблагоприятном воздействии тестируемого вещества на метаболизм, а в сочетании с данными токсикологического исследования – о проявлении побочных и нежелательных эффектов. Негативно-

го изменения массы тела подопытных животных, получавших тиовюрцин по схеме с налоксоном, формирующей синдром отмены, не отмечалось (табл. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные исследования степени воздействия на структуру поведения животных в тесте «открытое поле» (горизонтальная активность, вертикальная и исследовательская активность, эмоциональность и ее вегетативные проявления, груминг и т.д.) позволяют заключить, что тиовюрцин после отмены 5-суточного введения по схеме с провокацией налоксоном не вызывает седацию или эйфорию у животных. В качестве позитивного свойства анальгетика отмечено его растормаживающее действие за счет активации ориентировочно-исследовательского компонента поведения в условиях обстановочной афферентации теста «открытое поле». Следует подчеркнуть, что «доминантных» компонентов абстинентного синдрома и рецессивных признаков синдрома отмены у животных после введения тиовюрцина не зафиксировано, в отличие от трамадол-зависимых грызунов. Снижение массы тела мышей, получавших анальгетики, не отмечалось, что предполагает отсутствие токсического воздействия на метаболизм подопытных животных. Отмена введений тиовюрцина с провокацией налоксоном не вызывала проявления гипералгезии у животных в тесте «Горячая пластина».

Представленные результаты свидетельствуют о том, что тиовюрцин не вызывает побочных эффектов, типичных для анальгетиков с опиоидным компонентом в механизме действия (трамадол), включающих развитие физической зависимости и формирование синдрома отмены после провокации налоксоном. В подтверждение вышесказанного проведенные ранее исследования *in vivo* и *in silico* (докинг, молекулярное моделирование, моделирование молекулярной динамики) мультитаргетного механизма действия тиовюрцина объясняют отсутствие его морфиноподобного действия тем, что основными мишенями анальгетика являются TRPA1-рецепторы и потенциал-зависимые Ca^{2+} ионные каналы [6, 12]. Полученные выводы позволяют с высокой степенью вероятности прогнозировать отсутствие лекарственной зависимости при клиническом применении малотоксичного высокоэффективного анальгетика, а выявленное ранее отсутствие его ulcerогенного действия позволит применять тиовюрцин длительными курсами без угрозы гастро-токсичности для пациентов с хроническим болевым синдромом.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Соснов А.В., Садовников С.В., Семченко Ф.М., Руфанов К.А., Тохмахчи В.Н., Соснова А.А. и др. Сильнодействующие ненаркотические анальгетики как направление развития фармацевтики. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2016;14(1):196–206.
2. Михайлова А.С. Анальгетический арсенал клинициста. *Фарматека*. 2018;(3):50–56.
3. Sawich S.O., Deonarine U., Harding H.E., Dan D., Naraynsingh V. Cannabis and postoperative analgesia. Handbook of cannabis and related pathologies. *Biology, Pharmacology, Diagnosis, and Treatment*. 2017;450–458. DOI: 10.1016/B978-0-12-800756-3.00052-1.
4. Крылова С.Г., Лопатина К.А., Зуева Е.П., Сафонова Е.А., Поветьева Т.Н., Нестерова Ю.В. и др. Анальгетическое действие производного гексаазайсворцитана на моделях соматической боли, вызванной активацией TRPA1- и TRPV1-ионных каналов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020;19(4):110–118. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-4-110-118.
5. Krylova S.G., Povet'eva T.N., Zueva E.P., Suslov N.I., Amosova E.N., Razina T.G. et al. Analgesic activity of hexaazaisowurtzitane derivatives. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019;166(4):461–465. DOI: 10.1007/s10517-019-04372-9.
6. Krylova S.G., Lopatina K.A., Nesterova Yu.V., Povet'eva T.N., Kul'pin P.V., Afanas'eva O.G. et al. Some aspects of investigation of the central mechanism of antinociceptive effect of a new analgetic from the hexaazaisowurtzitane group. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2021;170(6):752–758. DOI: 10.1007/s10517-021-05148-w.
7. Лопатина К.А., Крылова С.Г., Зуева Е.П., Сафонова Е.А., Разина Т.Г., Рыбалкина О.Ю. и др. Изучение механизма действия нового анальгетика производного гексаазайсворцитана: эффекты медиаторов воспаления. *Российский журнал боли*. 2018;58(4):68–72.
8. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2013:944.
9. Rice A.S., Cimino-Brown D., Eisenach J.C., Kontinen V.K., Lacroix-Fralish M.L., Machin I. et al. Animal models and the prediction of efficacy in clinical trials of analgesic drugs: a critical appraisal and call for uniform reporting standards. *Pain*. 2008;139:243–247. DOI: 10.1016/j.pain.2008.08.017.
10. Barrot M. Tests and models of nociception and pain in rodents. *Neuroscience*. 2012;211:39–50. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2011.12.041.
11. Brady J.V., Nauta W.J.H. Subcortical mechanisms in emotional behavioral affective changes following septal forebrain lesions in the albino rat. *J. Comparative and Physiol. Psychol.* 1953;46(3):339–341.
12. Aguero S., Megy S., Eremina V.V., Kalashnikov A.I., Krylova S.G., Kulagina D.A. et al. Discovery of a novel non-narcotic analgesic derived from the CL-20 explosive: synthesis, pharmacology, and target identification of thiowurtzine, a potent inhibitor of the opioid receptors and the ion channels. *ACS Omega*. 2021;6(23):15400–15411. DOI: 10.1021/acsomega.1c01786.

Вклад авторов

Крылова С.Г. – разработка концепции и дизайна экспериментов, участие в опытах, проверка критически важного интеллектуального содержания. Лопатина К.А. – осуществление экспериментов, статистический анализ, написание статьи. Зуева Е.П., Суслов Н.И. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Поветьева Т.Н. – разработка концепции и дизайна экспериментов, участие в экспериментах. Нестерова Ю.В. – участие в экспериментах, статистический анализ. Афанасьева О.Г., Киселева Е.А., Кульпин П.В. – участие в экспериментах. Сысолятин С.В. – организация синтеза объекта исследования. Кулагина Д.А. – синтез и предоставление объекта исследования. Жданов В.В. – анализ результатов компьютерного прогнозирования активности, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Крылова Светлана Геннадьевна – д-р биол. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория онкофармакологии, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, krylova5935@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0249-1395>

Лопатина Ксения Александровна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория онкофармакологии, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, k.lopatina@pharmso.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4445-4859>

Зуева Елена Петровна – д-р биол. наук, профессор, зав. лабораторией онкофармакологии, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, zep0929@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6480-6770>

Поветьева Татьяна Николаевна – д-р мед. наук, профессор, вед. науч. сотрудник, лаборатория фитотерапии и специального питания, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, ptn@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8644-489X>

Нестерова Юлия Владимировна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория фитотерапии и специального питания, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, nes-yuliya@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1382-926X>

Афанасьева Ольга Геннадьевна – канд. биол. наук, науч. сотрудник, лаборатория фитотерапии и специального питания, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, olgaafanasjeva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7374-5586>

Киселева Елена Александровна – мл. науч. сотрудник, лаборатория онкофармакологии, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, Elena_Kis@sibmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3732-1302>)

Кульпин Павел Валерьевич – мл. науч. сотрудник, лаборатория фитотерапии и специального питания, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, pavellevap@inbox.ru

Суслов Николай Иннокентьевич – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией фитотерапии и специального питания, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, nis-51@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7993-5639>

Кулагина Дарья Александровна – канд. хим. наук, мл. науч. сотрудник, лаборатория медицинской химии, ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск, imbir@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4673-5817>

Сысолятин Сергей Викторович – д-р хим. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. лабораторией медицинской химии, директор ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск, dir@ipcet.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1405-171X>

Жданов Вадим Вадимович – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, директор НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, Zhdanov_vv@pharmso.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9516-0204>

(✉) **Крылова Светлана Геннадьевна**, krylova5935@gmail.com

Поступила в редакцию 25.06.2021;
одобрена после рецензирования 17.09.2021;
принята к публикации 24.09.2021