

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. М. І. ПИРОГОВА МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

МАЛЬЧЕНКО ОКСАНА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 615.212:547.8:612.08

ДИСЕРТАЦІЯ

**ПОШУК НОВИХ АНАЛГЕТИКІВ СЕРЕД *N*-АРИЛ(ГЕТАРИЛ)-4-
МЕТИЛ-2,2-ДІОКСО-1*H*-2λ⁶,1-БЕНЗОТІАЗИН-3-КАРБОКСАМІДІВ ТА
ЇХ СТРУКТУРНО БЛИЗЬКИХ АНАЛОГІВ
(експериментальне дослідження)**

222 – Медицина
(22 – Охорона здоров'я)

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело


_____ О. В. Мальченко

Науковий керівник: Волощук Наталія Іванівна, доктор медичних наук,
професор

Вінниця – 2021

АНОТАЦІЯ

Мальченко О. В. Пошук нових аналгетиків серед *N*-арил(гетарил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів та їх структурно близьких аналогів (експериментальне дослідження). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – «Медицина». – Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Вінниця, 2021.

Дослідження присвячене пошуку перспективних речовин з аналгетичною активністю серед нових оригінальних похідних *N*-арил(гетарил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду, виявленню сполуки-лідера, конкурентноспроможної з сучасними аналогами для створення на її основі нового лікарського засобу.

В роботі вперше проведено первинний фармакологічний скринінг серед великої групи *N*-арил(гетарил)-заміщених 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів, їх близьких структурних аналогів і деяких поліморфних модифікацій, виявлено найбільш активні сполуки, які доцільно вивчати в якості засобів із аналгетичною та протизапальною діями. Серед сполук, які досліджували, найбільш виразну фармакологічну активність на моделі карагенінового набряку кінцівки у щурів виявили: *N*-(4-метилбензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамід (сполука NI-7), *N*-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамід (сполука NI-9), *N*-(5-метилпіридин-2-іл)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамід (сполука NI-87), *N*-(5-метилпіридин-2-іл-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамід (сполука NI-82), *N*-(тіофен-2-ілметил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамід (сполука NI-30). За ступенем виразності антиноцицепції та протизапальної активності ці речовини в скринінговій дозі 20 мг/кг нутрішньочеревно співставлялись або

перевершували препарати порівняння лорноксикам та диклофенак. Оцінка гострої токсичності найбільш активних сполук за їх внутрішньочеревного введення мишам та внутрішньошлункового введення щурам показала, що найбільш безпечною серед всіх фармацевтичних композицій виявилась N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду (сполука NI-9), яка і була обрана в якості сполуки-лідера: її LD₅₀ за зазначених умов експерименту становила, відповідно 682,0 та 822,6 мг/кг, що було меншим, ніж у диклофенаку та мелоксикаму, за аналогічних режимів введення. За результатами молекулярного докінгу досліджуваної сполуки в активний сайт мелоксикаму спрогнозовано високу ступінь афінитету та значну вірогідність реалізації анальгетичного та протизапального ефектів за рахунок інгібування ензиму ЦОГ-2.

Вперше було визначено середню ефективну дозу (ED₅₀) за анальгетичною активністю сполуки-лідера (NI-9) на моделі «tail-flick» у щурів, яка становила 2,98 ± 0,15 мг/кг внутрішньолунково. При порівнянні ефективності цієї сполуки з неселективними інгібіторами ЦОГ-1 та ЦОГ-2 диклофенаком і лорноксикамом, а також селективним інгібітором ЦОГ-2 мелоксикамом, було встановлено, що NI-9 була більш ефективною, оскільки її ED₅₀ перевершувала референтні препарати диклофенак, лорноксикам та мелоксикам в 2,78, 1,70 та 1,57 рази, відповідно.

Отримано нові дані щодо фармакологічної активності N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду на різних моделях больових синдромів, які продемонстрували її здатність усувати біль соматичного походження (зменшує кількість оцтово-кислих корчів на 38,1 % (p < 0,05), що співставно із дією мелоксикаму, однак поступається диклофенаку. На моделі центрального вісцерального болю (термічне подразнення) NI-9 незначно перевершувала мелоксикам та практично не відрізнялась за силою анальгезії від диклофенаку на 2-й годині експерименту, проте за тривалістю ефекту значно перевершувала обидва препарати (в 3,47 та 1,54 рази, відповідно на 6-й годині експерименту, p < 0,05). На моделі

периферичного больового синдрому запального походження (ад'ювантний артрит у щурів) сполука NI-9 більш ефективно зменшувала ознаки гіперальгезії, ніж селективний інгібітор ЦОГ-2 мелоксикам (в 1,37 рази), та неселективний інгібітор ЦОГ-1 та ЦОГ-2 диклофенак (в 1,46 рази). На моделі нейропатичного больового синдрому (діабетична нейропатія, викликана стрептозотоцином) сполука NI-9 статистично значуще підвищувала больовий поріг на 31,3 % ($p < 0,05$), що було більшим за дію референс-препарату мелоксикаму (26,0 %). Таким чином, за силою аналгетичного ефекту сполука з лабораторним шифром NI-9 переважає мелоксикам на всіх моделях больових синдромів та диклофенак на моделі експериментального запалення (ад'ювантного артриту). Подальше поглиблене вивчення її фармакодинаміки та токсичності стане теоретичним підґрунтям для розробки на основі цієї біологічно активної сполуки оригінального лікарського засобу із знеболюючою та протизапальною активностями.

Дослідження ульцерогенного потенціалу сполуки N-(4-метоксибензил)-4-метил-2.2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти довело її високий ступінь безпечності щодо шлунково-кишкового тракту, за яким вона перевершує референс-препарат мелоксикам: показники множинності і важкості виразкування у сполуки NI-9 були вірогідно на 54,2 %, та 30,8 % меншими, ніж у мелоксикаму ($p < 0,05$).

Доповнено наукові дані щодо молекулярних механізмів пошкоджуючого впливу похідних бензотіазин-3-карбонових кислот на ШКТ, які включали депримуєчий вплив на різні рівні захисту шлунка (зменшення продукції глікозаміногліканів (ГАГ), порушення фосфоліпідного шару, активація оксидативного стресу в слизовій шлунка (СОШ), зменшення продукції вазодилатуючих молекул (простагландинів, нітроген монооксиду та гідроген сульфід). Зменшення вмісту в СОШ ГАГ, зростання вмісту малонового діальдегіду (МДА) та карбонільних груп протеїнів (КГП) у тварин на тлі введення сполуки NI-9 були достовірно меншими, ніж на тлі дії мелоксикаму. Порушення фосфоліпідного спектру СОШ не мали вірогідної різниці для обох

сполук. Після введення сполуки NI-9 вміст нітратів і нітритів, рівень H_2S в СОШ вірогідно не змінювались, тоді як на тлі застосування мелоксикаму - достовірно знижувались. Поряд з цим, сполука NI-9 не впливала на чутливість мезентеріальних артерій до вазорелаксуючої дії H_2S : підвищення ефективної концентрації (EC_{50}) (H_2S) було недостовірним (8,10 %, $p > 0,05$). В той же час, референс-препарат мелоксикам викликав суттєве зниження H_2S -індукованої вазодилатації: EC_{50} (H_2S) вірогідно зростала (на 21,2 %, $p < 0,05$).

Вперше показано, що в механізмах антиноцицептивної дії сполуки NI-9 не залучена опіоїдергічна система, натомість доведена участь альфа1- та альфа2-адренорецепторів, оскільки блокатор альфа1-адренорецепторів празозин статистично вірогідно зменшував антиноцицептивний ефект NI-9 на 2-й годині експерименту на 20,9 % ($p < 0,05$). Стимулятор центральних альфа2-адренорецепторів клонідин посилював дію сполуки за рахунок власних ефектів, тоді як блокатор цих рецепторів йохімбін суттєво зменшував ефект похідного карбоксаміду на 1-й та 2-й годинах дослідження на 66,0 та 62,6 % ($p < 0,05$), дещо менше – на 28,7 % ($p < 0,05$) на 3-й годині, і практично не впливав на аналгетичну дію на 4-й годині дослідження.

Згідно отриманих даних, до механізмів антиноцицептивної дії сполуки NI-9 не залучені бета-адренорецептори, оскільки агоніст (ізопротеренол) та блокатор (пропранолол) суттєво не змінювали її ефекту. Не було також отримано переконливих даних щодо участі ГАМК-ергічної системи в ефектах похідного карбоксаміду, оскільки на тлі дії флумазенілу ефект сполуки практично не змінювався, а комбінація з діазепамом викликала посилення аналгезії на рівні сумації ефектів.

Виявлено, що знеболюючий ефект N-(4-Метоксибензил)-4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду частково опосередковується через вплив на дофамінергічну та холінергічну систему, про що свідчить зменшення ступеня антиноцицепції за сумісного введення з блокатором дофамінових D_2 рецепторів хлорпромазином (в середньому в 1,25 - 1,79 рази) та практичного нівелювання аналгетичного ефекту за сумісного введення зі специфічним

антагоністом холінергічних рецепторів ніфедипіном (на пізніх термінах дослідження). Доказом участі NMDA-рецепторів в механізмах аналгезії є вірогідне зниження активності сполуки NI-9 на тлі введення мемантину в усі терміни дослідження на 23,9 - 52,6 %, ($p < 0,05$) у порівнянні з монотерапією сполукою, що досліджувалась.

Таким чином, наявність вираженого аналгетичного ефекту на тлі низької гастротоксичності дає підстави вважати сполуку NI-9 (N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти) перспективною речовиною для створення на їх основі нового ненаркотичного аналгетика та НПЗЗ, конкурентоспроможного з диклофенаком та мелоксикамом.

Ключові слова: похідні N-арил(гетарил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду, аналгетична, протизапальна дія, ульцерогенність, гостра токсичність, механізми дії, гідроген сульфід, нітроген монооксид, циклооксигеназа, миші, щури.

ANNOTATION

Malchenko O. V. Search for new analgesics among N-aryl(hetaryl)-4-methyl-2,2-dioxo-1*H*-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamide and their structurally similar analogues (experimental study). – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree Doctor of Philosophy in «Health Care» in specialty 222 – “Medicine”. – National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsia, 2021.

The study is devoted to the search for a leading substance with analgesic activity among the new original modern derivatives of N-aryl (hetaryl)-4-methyl-2,2-dioxo-1*H*-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamides to identify a competitive substance for creating a new drug on its basis.

For the first time, primary pharmacological screening was performed among a large group of N-aryl(hetaryl)-substituted 4-methyl-2,2-dioxo-1*H*-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamides, their close structural analogs, and some polymorphic

modifications. The most active substances were identified as a potential analgesic and anti-inflammatory remedies. The most pronounced pharmacological activities in the model of carrageenan edema in rats were found in N- (4-methylbenzyl)-4-methyl-2,2-dioxo-1*H*-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamide (substance NI-7), N-4-methoxybenzyl-4-methyl-2,2-dioxo-1*H*-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamide (Substance NI-9), N- (5-methyl pyridine-2-yl) - 4-methyl-2,2-dioxo-1*H*-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamide (Substance NI-87), N- (5-Methylpyridin-2-yl-4-methyl-2,2-dioxo-1*H*-2λ⁶,1-Benzothiazine-3-carboxamide (Substance NI-82), N- (Thiophen-2-ylmethyl)-4-Methyl-2,2-dioxo-1*H*-2λ⁶,1-Benzothiazine-3-Carboxamide (Substance NI-30). In terms of severity of antinociception and anti-inflammatory activity, these substances at a screening intraperitoneally dose of 20 mg/kg were compared or superior to the comparators: lornoxicam and diclofenac. N-4-methoxybenzyl-4-methyl-2,2-dioxo-1*H*-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamide (substance NI-9) demonstrated the best safety in terms of acute gastric toxicity among all active substances. That's why it was chosen as the leading substance. Its LD₅₀ was 682.0 and 822.6 mg/kg, respectively in the experimental conditions, which were lower than for diclofenac and meloxicam with similar dosing regimens. A high degree of affinity and likelihood of analgesic and anti-inflammatory effects due to inhibition of the COX-2 enzyme were anticipated as a result of molecular docking of the studied substance to the active site of meloxicam.

For the first time, the mean effective dose (ED₅₀) was determined by the analgesic activity of the leading substance (NI-9) in the tail-flick model in rats, which was 2.98 ± 0.15 mg/kg intragastrically. Comparing the efficacy of this substance with the non-selective COX-1 and COX-2 inhibitors diclofenac and lornoxicam, as well as the selective COX-2 inhibitor meloxicam, NI-9 was found to be more effective because its ED₅₀ was superior to the reference drugs diclofenac, lornoxicam 2.78, 1.70, and 1.57 times, respectively.

New data on the pharmacological activity of N-4-methoxybenzyl-4-methyl-2,2-dioxo-1*H*-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamide have been obtained in various models of pain syndromes. They have demonstrated its ability to eliminate the pain

of somatic origin (reduced the number of acetic acid convulsions by 38.1% ($p < 0.05$), which was comparable to the action of meloxicam, but inferior to diclofenac. NI-9 was slightly superior to meloxicam and did not differ from diclofenac in the strength of analgesia at the 2nd hour of the experiment in the model of central visceral pain (thermal irritation). But its action was significantly higher than both drugs (3.47 and 1.54 times, respectively), at the 6th hour of the experiment, $p < 0.05$. NI-9 reduced the incidence of hyperalgesia more effectively than the selective COX-2 inhibitor meloxicam (1.37-fold) and the non-selective COX-1 and COX-2 inhibitor diclofenac (1.46-fold) in adjuvant arthritis in rats. NI-9 increased the pain threshold statistically significantly by 31.3% ($p < 0.05$) in the models of neuropathic pain syndrome (diabetic neuropathy caused by streptozotocin), which was higher than the effect of the reference drug meloxicam (26.0%). Thus, the strength of the analgesic effect of the substance with the laboratory code NI-9 was superior to meloxicam in all models of pain syndromes, and diclofenac in the model of experimental inflammation (adjuvant arthritis). Further in-depth study of its pharmacodynamics and toxicity will be the theoretical basis for the development of the original medicine with analgesic and anti-inflammatory activities.

The study of the ulcerogenic potential of the substance N-4-methoxybenzyl-4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ6,1-benzothiazine-3-carboxamide proved its high level of gastric safety, which overcome the reference drug - meloxicam. The multiplicity and severity of ulceration in NI-9 substances were lower than in meloxicam by 54.2% and 30.8% ($p < 0.05$).

Scientific data on the molecular mechanisms of the damaging effects of benzothiazine-3-carboxylic acids on the gastrointestinal tract have been supplemented. They included depriving effects on various levels of gastric protection: reduction of glycosaminoglycans production, phospholipid layer disorders, decrease in glycosaminoglycans in gastric mucosa, increase in malondialdehyde and protein carbonyl groups in animals due to NI-9 administration. They were significantly lower than in the case of meloxicam administration. The nitrate, nitrite, and H₂S levels in the gastric mucosa were unlikely to change

significantly after administration of NI-9, whereas meloxicam significantly reduced them. Additionally, NI-9 did not influence the vasoreactivity of mesenteric arteries due to H₂S: increase EC₅₀ (H₂S) was insignificant (8.10%, $p > 0.05$). At the same time, the reference drug meloxicam caused a significant reduction in H₂S-dependent vasodilation: EC₅₀ (H₂S) was increased significantly by 21.2%, $p < 0.05$).

It was shown for the first time that the opioidergic system was not involved in the mechanisms of antinociceptive action of NI-9, but the involvement of α -1 and α -2 adrenoceptors was proven because the α -1 adrenoceptor blocker prazosin statistically significantly reduced the antinociceptive effect of NI-9 at 2 hours by 20.9% ($p < 0.05$). The central α -2-adrenoreceptor stimulant clonidine potentiated the effect of the substance due to its intrinsic effects, while the blocker of these receptors yohimbine significantly reduced the effect of the carboxamide derivative in the 1st and 2nd hours of the study: by 66.0 and 62.6% ($p < 0.05$), slightly less - by 28.7% ($p < 0.05$) at 3 hours, and had almost no analgesic effect at 4 hours of the study.

Beta-adrenoceptors are not involved in the mechanisms of antinociceptive action of the substance NI-9 according to our data, because the agonist (isoproterenol) and blocker (propranolol) did not significantly change its effect. There was also no convincing data on the involvement of the GABA-ergic system in the effects of carboxamide derivatives, as the effect of the substance was unchanged on the background of flumazenil action, and combination with diazepam potentiated analgesia.

It was found that the analgesic effect of N-4-methoxybenzyl-4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ6,1-benzothiazine-3-carboxamide is partially mediated by effects on the dopaminergic and cholinergic system, as evidenced by a decrease in the degree of antinociception in case of co-administration with the dopamine D₂ receptors blocker chlorpromazine (on average in 1.25-1.79 times) and canceling of the analgesic effect by co-administration with a specific antagonist of the cholinergic receptor nifedipine (at a later trial date). A significant decrease in the activity of NI-9 on the background of memantine administration was evidence of the involvement of NMDA receptors

in the mechanisms of analgesia is in all study periods by 23.9 - 52.6% ($p < 0.05$) compared with monotherapy with the studied substance.

Thus, the presence of a pronounced analgesic effect on the background of low gastrotoxicity suggests that the substance NI-9 (N-4-methoxybenzyl-4-methyl-2,2-dioxo-1*H*-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamide) is a promising substance for creating on its basis of a new non-narcotic analgesic and NSAID, competitive with diclofenac and meloxicam.

Keywords: N-aryl(hetaryl)-4-methyl-2,2-dioxo-1*H*-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamides derivatives, analgesic, anti-inflammatory action, ulcerogenic action, acute toxicity, mechanisms of action, hydrogen sulfide, nitrogen monoxide, cyclooxygenase, mice, rats.

Список публікацій здобувача

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Malchenko O. V. Investigation of 4-methyl-2,2-dioxo-1*H*-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamide derivative influence on the biochemical markers of gastric mucosa in rats / O. V. Malchenko, N. I. Voloshchuk, N. O. Pentuk // Biomedical and biosocial anthropology. – 2020. – № 41. – P. 36-40 DOI: <https://doi.org/10.31393/bba41-2020-06>.
2. Мальченко О. В. Експериментальне дослідження механізмів анальгезуючої дії похідного 4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполука NI-9) у щурів / О. В. Мальченко, Н. І. Волощук, О. В. Грималовська // Вісник Вінницького Національного медичного університету імені М. І. Пирогова. – 2021. – № 1(25). – С. 12-17 DOI:10.31393/reports-vnmedical-2021-25(1)-02.
3. Malchenko O. V. In-depth investigation of analgesic activity of N-(4-methoxybenzyl)-4-methyl-2,2-dioxo-1*H*-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamide derivate on different models of pain perception / O. V. Malchenko // Biomedical and biosocial anthropology. – 2021. – № 42. – P. 57-63. DOI: 10.31393/bba42-2021-10.

4. Malchenko O. V. 4-Methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxylic Acid. Peculiarities of Preparation, Structure, and Biological Properties / I. V. Ukrainets, G. M. Hamza, A. A. Burian, S. V. Shishkina, N. I. Voloshchuk, O. V. Malchenko // Sci. Pharm. – 2018. – Vol. 86, №1. – 9. – URL: <https://doi:10.3390/scipharm86010009> (Last accessed: 02.05.2021).
5. Malchenko O. V. Molecular Conformations and Biological Activity of N-Hetaryl(aryl)alkyl-4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamides / I. V. Ukrainets, G. M. Hamza et al. // Sci. Pharm. – 2018. – Vol. 86, №4. - 50.– URL: <https://doi:10.3390/scipharm86040050> (Last accessed: 03.05.2021).
6. Malchenko O. V. The Crystal Structure of N-(1-Arylethyl)-4-methyl- 2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamides as the Factor Determining Biological Activity Thereof / I. V. Ukrainets, G. M. Hamza, A. A. Burian et al. // Sci. Pharm. – 2019. – Vol. 87, № 2. - 10. - URL: <https://doi:10.3390/scipharm87020010> (Last accessed: 12.05.2021).
7. Malchenko O. V. Synthesis and Regularities of the Structure–Activity Relationship in a Series of N-Pyridyl-4-methyl-2,2- dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamides / I. V. Ukrainets, A. A. Burian, G. M. Hamza et al. // Sci. Pharm. – 2019. – Vol. 87, № 2. - 12. – URL: <https://doi.org/10.3390/scipharm87020012> (Last accessed: 02.06.2021).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

8. Українець І. В. Скринінгові дослідження протизапальної та знеболюючої активності похідних N-г-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду / І. В. Українець, Н. І. Волощук, О. В. Мальченко // Тези доповідей V Національного з'їзду фармакологів України (18-20 жовтня 2017 р., м. Запоріжжя). – Запоріжжя, 2017. – С. 19.
9. Особливості синтезу та просторової будови 4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти / І. В. Українець, Г. М. Хамза, Г. О. Бур'ян, О. В. Мальченко // Тези доповідей Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Синтез і аналіз біологічно активних

- речовин і лікарських субстанцій», присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича (12-13 квітня 2018 р., м. Харків). – Харків, 2018. – С. 121-122.
10. Malchenko O. V. Peculiarities of structure and pharmacological properties of 4-Methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxylic acid / O. V. Malchenko // Матеріали XV Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку-2018» (18-20 квітня 2018 р., м. Вінниця). – Вінниця, 2018. – С. 436.
11. N-benzyl-4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzo-thiazine-3 carboxamides as new analgesic and anti-inflammatory agents / I. V. Ukrainets, A. A. Burian, G. M. Hamza, N. I. Voloshchuk, O. V. Malchenko // 8th International Conference “Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles” in memoriam of Prof. Valeriy Orlov (12-16 November, 2018 Kharkiv, Ukraine). – CNCH-2018. Book of Abstracts. – Kharkiv, 2018. – P. 147.
12. Мальченко О. В. Експериментальне дослідження гострої токсичності та середньої ефективної дози N-піридил-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду / О. В. Мальченко // Матеріали XVIII Наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку-2021» (15-17 квітня 2021 р., м. Вінниця). – Вінниця, 2021. – С. 507.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	16
ВСТУП.....	18
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ НАПРЯМКИ ФАРМАКОТЕРАПІЇ БОЛЬОВОГО СИНДРОМУ - ПРОБЛЕМИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	25
1.1. Біль. Ноцицептивна і антиноцицептивна системи.....	25
1.2. Патобіохімічні ланки формування больового синдрому....	28
1.3. Фармакотерапія больового синдрому. Стан питання та перспективи.....	36
1.4. Похідні карбоксамідів як потенційні засоби в лікуванні больового синдрому.....	46
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ, МОДЕЛІ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	51
2.1. Характеристика тест-зразків	51
2.2. Характеристика лабораторних тварин.....	56
2.3. Фармакологічні методи дослідження.....	60
2.4. Дослідження гастротоксичної дії речовин.....	65
2.5. Біохімічні методи дослідження.....	66
2.6. Методика реєстрації скоротливості гладком'язових препаратів судин	67
2.7. Методика проведення докінг-аналізу	69
2.8. Методи статистичної обробки отриманих даних.....	69
РОЗДІЛ 3. СКРИНІНГ АНАЛГЕТИЧНОЇ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ <i>N</i> -АРИЛ(ГЕТАРИЛ)-4-МЕТИЛ- 2,2-ДІОКСО-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-БЕНЗОТІАЗИН-3-КАРБОКСАМІДІВ	71
3.1. Оцінка знеболюючої та протизапальної активності 4-метил- 2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин карбонової кислоти та її натрієвої солі	71

3.2	Оцінка знеболюючої та протизапальної активності N-піридил-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамідів	73
3.3	Оцінка знеболюючої та протизапальної активності похідних N-гетарил(арил)алкіл-4метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксаміду	76
3.4	Оцінка знеболюючої та протизапальної активності N-(1-арилетил)-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамідів та їх оптичних ізомерів	81
3.5.	Дослідження гострої токсичності найбільш активних похідних N-R-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамідів. Вибір сполуки-лідера	84
3.6.	<i>In silico</i> дослідження сполуки-лідера (N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксаміду (сполуки NI-9)	90
РОЗДІЛ 4.	ПОГЛИБЛЕНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ НАЙБІЛЬШ АКТИВНОГО ПОХІДНОГО N-R-4-МЕТИЛ-2,2-ДІОКСО-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-БЕНЗОТІАЗИН-3-КАРБОКСАМІДІВ.....	98
4.1.	Визначення середньої ефективної дози за аналгетичною активністю сполуки-лідера серед похідних N-R-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамідів, диклофенаку мелоксикаму та лорноксикаму	98
4.2.	Дослідження аналгетичної активності N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксаміду на моделі вісцерального больового синдрому	101
4.3.	Дослідження аналгетичної активності N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксаміду на моделі термічного соматичного больового синдрому	103

4.4.	Дослідження аналгетичної активності N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксаміду на моделі хронічного автоімунного процесу (ад'ювантного артриту) у щурів	104
4.5.	Дослідження аналгетичної активності N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксаміду на моделі нейропатичного больового синдрому	107
РОЗДІЛ 5. ДОСЛІДЖЕННЯ УЛЬЦЕРОГЕННОГО ПОТЕНЦІАЛУ N-(4-МЕТОКСИБЕНЗИЛ)-4-МЕТИЛ-2,2-ДІКСО-1 <i>H</i> -2 λ ⁶ ,1-БЕНЗОТІАЗИН-3-КАРБОНОВОЇ КИСЛОТИ (СПОЛУКИ NІ-9).....		
5.1.	Макроскопічна оцінка стану слизової оболонки шлунка за тривалого введення сполуки NІ-9 та мелоксикаму	116
5.2.	Зміни біохімічних маркерів стану слизової оболонки шлунку у щурів на тлі сполуки NІ-9 та мелоксикаму.....	119
5.3.	Дослідження впливу сполуки NІ-9 на скоротливість мезентеріальних артерій щурів	122
РОЗДІЛ 6. ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕЯКИХ МЕХАНІЗМІВ АНАЛГЕЗУЮЧОЇ ДІЇ N-(4-МЕТОКСИБЕНЗИЛ)-4-МЕТИЛ-2,2-ДІКСО-1 <i>H</i> -2 λ ⁶ ,1-БЕНЗОТІАЗИН-3-КАРБОНОВОЇ КИСЛОТИ (СПОЛУКИ NІ-9).....		
РОЗДІЛ 7. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....		
	ДОСЛІДЖЕННЯ.....	141
	ВИСНОВКИ.....	160
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ.....	163
	ДОДАТКИ.....	200

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АА – аналгетична активність
АДА – ад'ювантний артрит
АЕА – антиексудативна активність;
в/оч – внутрішньочеревне введення;
в/шл – внутрішньошлункове введення;
ВІ – виразковий індекс;
ГАГ – глікозаміноглікани;
ГАМК - гамма-аміномасляна кислота;
ЗФЛ – загальні фосфоліпіди
КГП – карбонільні групи протеїнів;
ЛП – латентний період.
ЛФХ - лізофосфатидилхолін
МДА – малоновий діальдегід;
НПЗЗ – нестероїдні протизапальні засоби;
ПБЧ – поріг больової чутливості;
ПГ – простагландини;
ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів;
СОД – супероксиддисмутаза;
СОШ – слизова оболонка шлунка;
ЦД – цукровий діабет
ЦНС – центральна нервова система;
ЦОГ – циклооксигеназа;
ШКТ – шлунково-кишковий тракт;
ФХ – фосфатидилхолін;
ФЕА – фосфатидилетаноламін
EC₅₀ – середня ефективна концентрація
ED₅₀ – середня ефективна доза
H₂S – гідроген сульфід;

LD₅₀ – середньосмертельна доза

NMDA – N-метил-D-аспартат;

NO – нітроген монооксид;

ВСТУП

Актуальність теми. Біль являє собою не тільки симптом більшості захворювань, але є складним психофізіологічним феноменом, в який залучені механізми регуляції та формування емоцій, моторні, гуморальні та гемодинамічні прояви, що формують больовий синдром [100, 219, 234]. Згідно визначення Міжнародної асоціації з вивчення болю (IAPS) «Біль – неприємне сенсорне і емоційне переживання, яке пов'язане з існуючим або можливим пошкодженням тканин або таким, що описується в термінах такого ушкодження» [281]. Найбільшу загрозу для здоров'я та якості життя має хронічний больовий синдром. Він не несе захисної функції та не має біологічної доцільності. Навпаки, хронічний біль веде до дезадаптації, до ненормального сприйняття больових та небольових імпульсів і супроводжується різноманітними порушеннями функції ЦНС [71].

Викладене вище пояснює постійний інтерес науковців до фармакологічної корекції больового синдрому. Загальне постаріння населення планети, негативний вплив екологічних та інших чинників веде до зростання кількості захворювань, які супроводжуються больовим та запальним синдромами. Незважаючи на те, що в загальному списку смертності перші позиції посідають інфаркт міокарда, інсульт, онкологічна патологія, інфекційні захворювання та діабет, хронічний больовий синдром є провідним джерелом людських страждань та інвалідності [159, 302].

Результати детального аналізу даних літератури стосовно сучасного ринку лікарських засобів, які застосовуються в лікуванні захворювань, що супроводжуються запаленням та больовим синдромом, не залишають сумнівів, що чільне місце займають нестероїдні протизапальні засоби. Переважна більшість цих препаратів є похідними карбонових кислот (див. розділ 1). Таке походження, а також особливості механізмів дії цих препаратів лежать в основі розвитку численних побічних реакцій цих препаратів, особливо – на шлунково-кишковий тракт. З іншого боку, цим сполукам притаманна висока аналгетична

активність. Беручи до уваги все вище зазначене, одним із ефективних шляхів покращення фармакологічних та токсикологічних характеристик препаратів є біоізостерична модифікація молекул шляхом введення різних замісників, що може значно посилити аналгетичні властивості та зменшити їх токсичність.

В якості об'єкта було обрано ряд похідних *N*-*R*-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду, синтезованих на кафедрі фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора Українця Ігоря Васильовича [287, 293].

Широкий фармакологічний потенціал сполук цього класу дає підставу сподіватись на наявність у них знеболюючої дії, що і стало підставою для проведення даного дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана в рамках планових НДР Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова МОЗ України: «Пошук та вивчення біологічно активних речовин серед природних сполук та продуктів хімічного синтезу» (№ держреєстрації 0118U001903 (2018-2022)). Дисертант є співвиконавцем зазначеної теми.

Мета дослідження: провести пошук перспективних речовин з аналгетичною активністю серед нових оригінальних похідних *N*-арил(гетарил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду, виявити сполуку-лідера, конкурентноспроможну з сучасними аналогами для створення на її основі нового лікарського засобу.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі **завдання:**

1. Провести фармакологічний скринінг аналгетичної та протизапальної активності в ряду нових арил- та гетарил- похідних 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду та їх структурних аналогів, виявити сполуку-лідера, конкурентноспроможну з диклофенаком натрію, мелоксикамом та лорноксикамом, визначити їх ЕД₅₀.

2. Визначити параметри гострої токсичності сполук-лідерів за внутрішньочеревного та внутрішньошлункового введення та їх терапевтичний індекс.

3. Провести поглиблені дослідження аналгетичної активності найбільш активної сполуки на різних моделях больової перцепції (вісцеральний, соматичний больовий синдром, хронічний запальний процес, нейропатичний больовий синдром).

4. Оцінити ульцерогенний потенціал сполуки-лідера серед похідних бензотіазин-3-карбонових кислот за макроскопічними, біохімічними та електрофізіологічними показниками.

5. Дослідити деякі рецепторні механізми знеболюючої дії сполуки-лідера N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти, сполуки NI-9.

Об'єкт дослідження: фармакологічна корекція больового синдрому за різних патологічних станів.

Предмет дослідження: фармакодинаміка та механізми дії нових хімічних речовин, які є похідними N-арил(гетарил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду.

Методи дослідження: фармакологічні (моделювання больових синдромів різного генезу, гострого та хронічного запального процесу, діабетичної полінейропатії), біохімічні (показники функціонального стану слизової оболонки шлунка, маркери оксидативного стресу, активність ізоформ NO-синтаз, вміст гідроген сульфід), електрофізіологічні (скоротлива здатність мезентеріальних артерій), докінг-аналіз, статистичні (програми Excel, Statistics 6.0, дисперсійний аналіз ANOVA та ранговий аналіз, критерій Манна-Уїтні та Крускал-Уоліса).

Наукова новизна одержаних результатів. Отримані результати доповнюють наукові дані, що бензотіазин-3-карбоксаміди є перспективними для створення нових високоефективних та безпечних знеболюючих засобів. В дослідженні вперше проведено первинний фармакологічний скринінг N- N-

арил(гетарил)-заміщених 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів, їх близьких структурних аналогів і деяких поліморфних модифікацій та було виявлено найбільш активні сполуки, які доцільно було вивчати в якості засобів із аналгетичною та протизапальною дією. Проведене дослідження гострої токсичності цих сполук показало, що найбільш активною та безпечною є N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполука з лабораторним шифром NI-9), ЛД₅₀ якої за внутрішньоочеревинного та внутрішньошлункового введення становив, відповідно 682,0 та 822,6 мг/кг, що було меншим ніж у диклофенаку та мелоксикаму за аналогічних режимів введення, а ЕД₅₀ за аналгетичною активністю становило 2,98±0,15 мг/кг внутрішньолунково, що свідчить про більшу ефективність її порівняно з диклофенаком, лорноксикамом та мелоксикамом. Вперше в умовах *in silico* проведений молекулярний докінг цієї речовини, згідно якого спрогнозовано високу ступінь афінітету та значну вірогідність реалізації аналгетичного та протизапального ефектів сполуки NI-9 за рахунок інгібування ензиму ЦОГ-2.

В роботі вперше проведено поглиблене дослідження аналгетичної активності сполуки NI-9 на різних моделях больових синдромів та показано, що за соматичного і термічного ушкодження активність її становила 38,1 та 49,7 %, відповідно, що співставляється з мелоксикамом, однак поступається диклофенаку. На моделі експериментального запального процесу (ад'ювантного артриту) сполука NI-9 виявляла більш потужну антиноціцептивну дію (її аналгетична активність становила 43,3 %), яка була статистично більшою ($p < 0,05$), ніж у референтних препаратів, а на моделі діабетичної полінейропатії її ефективність також переважала таку у мелоксикаму, хоча і поступалась габапентину. Вперше було встановлено відсутність опіоїдергічного компонента в механізмах антиноціцептивної дії сполуки NI-9, натомість доведено участь холінергічної системи, альфа-1 та альфа-2 адренорецепторів, дофамінових та частково - NMDA-рецепторів.

Вперше було показано, що сполука N-(4-метоксибензил)-4-метил-2.2-

діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти має високий ступінь безпечності щодо шлунково-кишкового тракту, за яким перевершує мелоксикам. 28-денне введення цієї сполуки щурам без модельної патології викликало незначні макроскопічні ознаки ураження шлунка, показники множинності і важкості виразкування у похідного 4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти були вірогідно на 54,2%, та 30,8 % меншими, ніж референс-препарату ($p < 0,05$).

Доповнено наукові дані щодо молекулярних механізмів пошкоджуючого впливу похідних бензотіазин-3-карбонових кислот на ШКТ, які включали депримуєчий вплив на різні рівні захисту шлунка (зменшення продукції ГАГ, порушення фосфоліпідного шару, активація оксидативного стресу в слизовій шлунка), зменшення продукції вазодилатуючих молекул (простагландинів, нітроген монооксиду та гідроген сульфїду). Зменшення вмісту в СОШ ГАГ, зростання вмісту МДА та КГП у тварин на тлі введення сполуки NI-9 були достовірно меншими, ніж на тлі дії мелоксикаму.. Після введення сполуки NI-9 вміст нітратів і нітритів, рівень H₂S вірогідно не змінювався, тоді як на тлі застосування мелоксикаму - вігогідно знижувались. Поряд з цим, сполука NI-9 не впливала на чутливість мезентеріальних артерій до вазорелаксуючої дії H₂S: підвищення EC₅₀ (H₂S) було недостовірим (8,10%, $p > 0,05$) В той же час, референс-препарат мелоксикам викликав суттєве зниження H₂S-індукованої вазодилатації: EC₅₀ (H₂S) вірогідно зростала (на 21,2%, $p < 0,05$).

Практичне значення одержаних результатів.

Результати проведеного дослідження розширяють наші уявлення про фармакодинаміку похідних карбоксамїду з різними хімічними замісниками.

Отримані дані теоретично обґрунтовують та експериментально доводять, що одним із ефективних шляхів до покращення фармакологічних та токсикологічних характеристик нестероїдних протизапальних засобів є біоізостерична модифікація молекул шляхом введення різних замісників, що може значно посилити аналгетичні властивості та зменшити їх токсичність.

Виявлення найбільш активного похідного - N-(4-метоксибензил)-4-

метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти та дослідження його фармакодинаміки дозволяє рекомендувати цю сполуку для подальших поглиблених досліджень в якості потенційного неопіоїдного анальгетика.

Результати впроваджено у науково-педагогічний процес кафедри біологічної та загальної хімії ВНМУ імені М. І. Пирогова МОЗ України, кафедри фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медичного університету, кафедри фармакології та фармакотерапії Національного фармацевтичного університету, кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, науковий процес лабораторії фізико-хімічної фармакології фізико-хімічного інституту імені О. В. Богатського НАН України.

Особистий внесок здобувача. Дисертантка особисто здійснювала патентно-інформаційний пошук, проаналізувала дані вітчизняної та зарубіжної літератури за темою дисертації, разом із науковим керівником визначила напрямки наукового дослідження, мету та задачі. Під керівництвом наукового керівника опанувала загальноприйняті моделі оцінки антиноцицептивної активності, гострої токсичності та інших методик, використаних в дослідженні. Дисертантка самостійно виконала експериментальні дослідження, провела статистичну обробку цифрових даних, підготувала розділи дисертації, у т. ч. частину, присвячену узагальненню та обговоренню отриманих результатів, разом із науковим керівником сформулювала висновки дисертації. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантці належать експериментальний матеріал і основний творчий доробок.

Авторка висловлює подяку за консультативну допомогу наступним співробітникам ВНМУ імені М. І. Пирогова МОЗ України: д.мед.н., професору кафедри біологічної та загальної хімії А. В. Мельнику при проведенні біохімічних досліджень, к.мед.н., доценту кафедри фармакології І. В. Тарану при проведенні фармакологічних досліджень, а також співробітникам Національного фармацевтичного університету: проф. доктору хімічних наук І. В. Українцю за

підготовку тест-зразків та доценту кафедри фармацевтичної хімії, доктору фармацевтичних наук Г. І. Севериній за консультативну допомогу у виконанні та інтерпретації результатів докінг-аналізу сполук.

Апробація результатів дисертації. Головний зміст наукового дослідження оприлюднено на V Національному з'їзді фармакологів України (Запоріжжя, 2017); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій», присвяченій 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича (12-13 квітня 2018 р., м. Харків); 8th International Conference «Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles» in memoriam of Prof. Valeriy Orlov (12-16 November, 2018 Kharkiv, Ukraine); XV Міжнародній науковій конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку - 2018» (Вінниця, 2018); XVIII Науковій конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку-2021» (15-17 квітня 2021 р., м. Вінниця).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 12 наукових праць, з них 7 статей опубліковано в наукових фахових журналах (4 входять до міжнародних наукометричних баз Scopus та Web of Science, 2 статті опубліковані в закордонному періодичному фаховому виданні (Польща та ВНМУ), 1 стаття в фаховому виданні України, 5 тез доповідей на наукових форумах.

Структура і обсяг дисертації. Дисертація викладена на 208 сторінках друкованого тексту (основна текстова частина - 163 сторінки) і включає анотацію, вступ, огляд літератури, опис матеріалів та методів дослідження, 4 розділи власних досліджень, аналіз і узагальнення одержаних результатів, висновки, список використаних літературних джерел, що включає 330 найменувань (64 кирилицею, 296 латиницею), додатки. Робота ілюстрована 25 рисунками та 35 таблицями.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ НАПРЯМКИ ФАРМАКОТЕРАПІЇ БОЛЬОВОГО СИНДРОМУ -
ПРОБЛЕМИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Біль. Ноцицептивна і антиноцицептивна системи

Згідно визначення, прийнятого у 2020 році Міжнародною асоціацією з вивчення болю, біль - це комплекс когнітивних, неприємних сенсорних та емоційних переживань, пов'язаний із реальним чи потенційним пошкодженням тканини або схожий на той, що пов'язаний з ним [243]. Біль, в першу чергу, служить механізмом виживання і попереджає про потенційне або фактичне пошкодження тканин, проявляється певними вегетативними, психологічними та поведінковими реакціями. Він абсолютно індивідуальний і суб'єктивний [48, 134, 137]. Може призводити до розвитку функціональних порушень (запаморочення, сонливість, нудота, слабкість), когнітивних дисфункцій (зниження пам'яті) або емоційних наслідків (гнів, депресія, дратівливість, перепади настрою, недосипання) [220, 244, 309].

Біль класифікують в залежності від етіологічних і патогенетичних чинників, від тривалості больових відчуттів, клінічних та інших факторів [24, 65, 230]. Так, за тривалістю больових відчуттів виділяють *гострий біль*, який виникає раптово, безпосередньо пов'язаний з пошкодженням, триває до кількох тижнів, визначається дією подразника та / або загоєнням тканин, має захисний характер, та *хронічний біль*, причина якого часто невідома, причинна подія і розвиток болю роз'єднані, тривалість від трьох місяців і може відчуватися після загоювання тканин, не має корисної захисної функції, позитивна адаптація не формується, досить часто стає самостійним захворюванням.

За патофізіологічними механізмами та клінічними проявами виділяють [20, 50, 314]:

1. *Ноцицептивний* – виникає внаслідок пошкодження структур, чутливих до болю. Пов'язаний з пошкодженням клітинних мембран і виділенням медіаторів запалення і болю (брадикінін, кініни, гістамін, простагландини тощо). В лікуванні реагує на ненаркотичні і наркотичні аналгетики. Поділяють на *соматичний*, який виникає при дії подразника на шкіру (порізи, ін'єкції, температурний вплив), м'язи, суглоби, суглобові зв'язки, кістки, при патологічних процесах у парієтальній очеревині; і *вісцеральний*, який виникає внаслідок ішемізації внутрішніх органів (біль при інфаркті міокарду); сильного скорочення або розтягнення гладком'язових органів (біль при нирковій коліці); перфорації внутрішніх органів (перитоніт при розриві апендиксу) [43, 276].

2. *Неноцицептивний або нейропатичний* – виникає внаслідок вторинного ураження структур периферичної нервової системи або центральної нервової системи (ЦНС) та порушення обробки сенсорної інформації. Для його лікування використовують ад'ювантну терапію. Часто призводить до хронізації. Для нього характерні гіпералгезія, алодинія, гіперпатія [8, 50, 102, 263]. Його поділяють на *периферичний*, який виникає внаслідок пошкодження ноцицепторних волокон та нервів при запаленні, ішемії, травмі, постгерпетичній або діабетичній нейропатії та ін., та *центральної*, який виникає при ураженні ЦНС на різних рівнях: ураження головного мозку при нейродегенеративних та цереброваскулярних захворюваннях; ураження спинного мозку при сирингомієлії, пошкодженні спинного мозку, демієлінізуючих захворюваннях; ураження спинномозкових корінців при їх стисканні (при грижі міжхребцевого диска), при травматичних ураженнях хребта та ін. [104, 247].

3. *Ноципластичний (дисфункціональний)* біль виникає внаслідок зміни ноцицепції за відсутності чітких доказів пошкодження тканин або свідчення того, що ураження безпосередньо впливає на соматосенсорну систему. Він не має захисної функції, не адаптивний, не сприяє відновленню та загоєнню. Його виникненню сприяють психо-емоційні та соціальні фактори, оскільки вони порушують адекватну роботу низхідних серотонін- та норадренергічної

антиноцицептивних систем, внаслідок чого знижується больовий поріг і звичайні невольові стимули сприймаються як больові. Характерний для фіброміалгії, захворювання скронево-нижньощелепного суглоба, інтерстиціального циститу, синдрому подразливого кишківника [21, 224].

З точки зору фізіології, біль, подібно до інших відчуттів, має специфічний рецепторний апарат, провідникову частину з підкірковими відділами, проєкційні і асоціативні ділянки в корі головного мозку та систему регуляції активності систем сприйняття і проведення больовий інформації – антиноцицептивну систему [2, 170].

Ноцицептивний шлях включає 3 порядки нейронів у спиноталамічному тракті [81, 143, 314]. Перший знаходиться в периферичних гангліях (дорсальний корінь і трійчасті ганглії). Це уніполярні клітини, периферична гілка аксону яких спрямовані до шкіри, м'язів, сухожилів або суглобів, де розгалужується на кінцеві волокна, які закінчуються соматосенсорними рецепторами. Центральна гілка йде до спинного мозку та стовбура головного мозку до другого нейрону, і звідти відростки піднімаються до вентрального задньолатерального ядра таламуса. Саме там знаходиться третій нейрон. Його відростки спрямовуються у різні ділянки головного мозку, де формуються сенсорні особливості болю - тривалість, локалізація, якість (соматосенсорна ділянка кори) та емоційні і мотиваційні реакції на біль (лімбічна система та префронтальна ділянка кори).

Виникнення болю починається з впливу подразнюючих факторів на ноцицептори, які поділяються на механо-, термо-, хемо- або змішані [76, 124]. Перші активуються при деформації або розтягненні мембрани, другі – під впливом медіаторної речовини, яка виділяється у відповідь на зміну інтенсивності метаболічних процесів під впливом температури; хеморецептори болю активуються під впливом альгогенів. Ноцицептори електрично безшумні і передають потенціал дії лише при стимуляції. Їх активація призводить до експресії потенціалзалежних іонних каналів (наприклад, різні підтипи K_v , Na_v , Ca_v , каналів), які перетворюють потенціал рецептора в потенціал дії. Передача

больової імпульсації від ноцицепторів до ЦНС здійснюється по мієліновим А δ - і безмієліновим С-волокнам, які відрізняються збудливістю та швидкістю проведення імпульсів [48, 121, 314].

1.2 Патобіохімічні ланки формування больового синдрому

Процес формування болю включає чотири послідовних етапи [41, 81, 277]:

1. Трансдукція – активація больових рецепторів пошкоджуючими подразниками з формуванням ноцицептивних сигналів (потенціалів дії).

2. Трансмісія – проведення ноцицептивних сигналів по аферентним провідним шляхам з периферії в ЦНС. Больова імпульсація може піддаватися модуляції за рахунок активації низхідної ендогенної антиноцицептивної системи.

3. Трансформація (пластичність) – модуляція ноцицептивних сигналів в синапсах і в ЦНС за допомогою висхідного, низхідного або регіонального сприяння та гальмування.

4. Перцепція (сприйняття) – обробка отриманої інформації корою головного мозку з формуванням когнітивних та емоціно-афективних реакцій.

В цьому процесі відбувається цілий каскад біохімічних і патофізіологічних змін за участі різноманітні хімічних речовин. Основні типи їх представлені в таблиці 1.1.

Антиноцицептивна система - утворена різними структурами головного мозку та забезпечує захисний механізм ендогенної аналгезії через активацію опіатної і неопіатної нейрональних систем. [112, 315]. Основний механізм аналгезії полягає в нейрохімічному блокуванні нервової імпульсації пре- і постсинаптичних мембран за допомогою катехоламінів, серотоніну, ендогенних опіоїдних (енкефаліни, ендорфіни, динорфіни) і неопіоїдних

(ангіотензин, нейротензин, холецистокінін та ін.) речовин, а також шляхом гальмування нейромедіаторів больової чутливості

Таблиця 1.1

Тканинні, плазмові та нейроренні хімічні речовини, які є альгогенами

<i>Тканинні - виділяються з пошкоджених клітин [79, 121, 165, 209, 250, 264, 327]</i>	
цитокіни (фактор некрозу пухлини альфа (TNF α), інтерлейкіни (IL-1, IL-6, IL-8)	ініціюють і підтримують запальні процеси, впливаючи на імунні та запальні клітини; стимулюють утворення інших альгогенів; при гострому процесі цитокіни викликають сенсibilізацію через рецептор-асоційовані кінази та фосфорилування іонних каналів, а при хронічному запаленні переважає транскрипційна регуляція рецепторів та вторинна сигналізація
простагландини	важливі посередники запалення, лихоманки та болю, синтезуються за участі ЦОГ; мають прямий активуючий вплив на ноцицептори, хоча основна їх роль полягає в сенсibilізації через підвищення рівня ц-АМФ та порогу активації Na $^+$ -каналів через протеїнкіназу А
нейротрофні фактори росту (NGF)	активуються цитокінами і відіграють суттєву роль в розвитку гіпералгезії при запаленні; при більш тривалій дії NGF приймає участь в регуляції експресії нейропептидів, речовини Р та пептиду, пов'язаного з геном кальцитоніну, а також ванілоїдних і брадикінінових рецепторів та іонних каналів; можуть синтезуватися нейронами і приймати участь в розвитку центральної сенсibilізації
АТФ	вивільняється пошкодженими тканинами і безпосередньо стимулює іонотропні пуринові рецептори (P $_2$ X) на нейронах I і II порядку, в наслідок цього збільшується потік іонів Na $^+$ і виникає деполяризація мембран. АТФ діє пресинаптично на ноцицептори, збільшуючи вивільнення глутамату. При метаболізмі АТФ утворюється, аденозин, який зв'язується з аденозиновими рецепторами, які, в свою чергу, приймають участь у сенсibilізації.

Продовження таблиці 1.1.

<i>Плазмові фактори</i> [130, 326]	
брадикінін	виділяється при пошкодженні тканин і впливає на запальний каскад на ранній стадіях, діючи через брадикінінові рецептори V_1 і V_2 .
<i>Нейрогенні</i> - виділяються з нервових закінчень в спинномозкових гангліях та нейронах заднього рогу спинного мозку [194, 225, 255, 296, 329]	
субстанція Р, глутамат, пептид, пов'язаний з геном кальцитоніну (CGRP)	Субстанція Р взаємодіє з рецепторами нейрокініну-1, активуючи протеїнкіназу С, яка фосфорилує NMDA-рецептори і посилює їх активність, вивільняються іони Mg^{2+} , глутамат взаємодіє з рецептором, викликаючи деполяризацію клітинної мембрани і передачу імпульсу. В пошкоджених тканинах речовина Р має хемотаксичні властивості щодо Т-клітин, моноцитів, нейтрофілів та еозинофілів, сприяє дегрануляції тучних клітин і викиду гістаміну, стимулює вивільнення цитокінів з макрофагів та вивільнення PGE_2 і колагенази з синовіоцитів; діє на посткапілярні венули, викликаючи вихід плазми. CGRP діє на артеріоли, викликаючи розширення судин.

Ендогенна опіоїдна система. Велика роль в модуляції больових відчуттів (особливо гострих) відводиться ендогенній опіоїдній системі, яка представлена опіатними рецепторами і відповідними лігандами [17, 140, 141]. Відомо кілька підтипів опіатних рецепторів (μ -, δ -, κ -, ζ -, ϵ -, η -), які представлені в різних відділах ЦНС та на периферії. В регуляції болю приймають участь μ -, δ -, κ -, η -рецептори, які розташовані пре- та постсинаптично і взаємодіють з ендогенними та екзогенними опіоїдами. Активуючи G-білки, вони інгібують аденілатциклазу, гальмують синтез ц-АМФ. В результаті відкриваються K^+ -канали (μ і δ) або закриваються Ca^{2+} (κ), викликаючи гіперполяризацію мембран і перешкоджаючи виникненню потенціалу дії та передачі нервового імпульсу.

Наслідком такої дії є послаблення або припинення надходження больових імпульсів і їх передачі [132, 148, 265]. Ендогенні ліганди – це пептидні продукти протеолізу гіпофізарного гормону β -ліпотропіна: ендорфіни (α , β , γ), енкефаліни (метіонін-енкефаліни, лейцин-енкефаліни), динорфіни. В найбільших концентраціях вони виявлені в місцях локалізації опіатних рецепторів (ЦНС, ПНС, вегетативні ганглії, внутрішні органи, наднирники).

Моноамінергічна система (адрен-, серотонін- та дофамінергічна) [77, 283]. Так, норадреналін через стимуляцію гальмівних α_2 -адренорецепторів на терміналіях нейронів у спинному мозку інгібує пресинаптичне вивільнення субстанції Р. Адренергічна система залучена до блокування больової імпульсації на всіх рівнях (спинальний, стовбуровий, центральний). Також її дія опосередкована шляхом впливу на α_1 -адренорецептори та активації інгібуючих ГАМК-ергічних інтернейронів [145, 158, 169]. В ЦНС норадреналін зменшує вивільнення пресинаптичного глутамату [235, 157]. Суттєва роль в модуляції болю відводиться і дофамінергічній системі [172, 258]. Експериментально доведено, що стимуляція дофамінергічних структур мозку призводить до зменшення больових відчуттів, а зниження його рівня в дофамінергічних структурах викликає гіпералгезію. Ще одним модулятором є серотонін, який регулює катехоламінергічні ефекти в нервовій системі. Ноцицептивну відповідь він реалізує через 5-НТ1, 5-НТ2, 5-НТ3 та 5-НТ7-рецептори у ЦНС. [42, 232, 236]. При цьому вміст серотоніну зростає на всіх рівнях ноцицептивної системи, а в антиноцицептивній системі посилюється його перетворення в 5-оксиіндолоцтову кислоту. Також під впливом серотоніну вивільняються β -ендорфіни.

Імідазолінові рецептори I_2 . Це мітохондріальні не пов'язані з G-білками рецептори з модулюючою функцією на моноаміноксидазу А та В (МАО-А та -В), які знаходяться в нейронах та клітинах астроглії. Активація I_2 -рецепторів призводить до інгібування активності МАО та, відповідно, сповільнення метаболізму моноамінів (серотоніну, норадреналіну та ін.) і збільшення їх концентрації в синаптичній щілині. Це, в свою чергу, спричиняє

активацію серотонінових і адренергічних систем, які є складовими антиноцицепції. [89, 261, 297]. В експерименті було доведено наявність антигіпералгічного ефекту у селективних агоністів I₂-рецепторів на моделях запалення та нейропатії у щурів (трацизолін, фенізолін) [191, 192, 274], стійкого та хронічного болю (агматин) [192]. На стадії клінічних досліджень знаходиться селективний агоніст I₂-рецепторів сполука CR4056 [191], який є перспективним препаратом для лікування хронічного болю.

В регуляції болю приймає участь і *холінергічна система* [135, 279]. Припускають, що стимуляція центральних М-холінорецепторів призводить до вивільнення опіоїдних пептидів. Так доведено, що використання холіноблокаторів послаблює морфінову аналгезію, а антихолінестеразних засобів – навпаки, її посилює. Аналгетична ефективність ботулотоксину типу А при м'язовому болю пов'язана з тим, що він гальмує виділення ацетилхоліну, що призводить до міорелаксації та зменшення виділення нейропептидів і периферичної чутливості [103, 237].

Глутамат та ГАМК-ергічні механізми регуляції болю. В ЦНС формування та виразність больових відчуттів регулюють два нейротрансмітери: глутамат і γ -аміномасляна кислота (ГАМК). Глутамат – це регулятор збудження, який діє через AMPA, NMDA та пресинаптичні метаботропні рецептори глутамату (mGluRs) [84, 235]. AMPA-рецептор – це натрій-селективний іонофор, що активується глутаматом, відіграє ключову роль в гострому збудженні в задньому розі спинного мозку. [280]. NMDA-рецептор – це іонофор кальцію, який експресується на різних рівнях ноцицептивних шляхів. Глутамат, який вивільняється при подразненні тканин, викликає зміни направленого току іонів Mg^{2+} , Na^+ і Ca^{2+} , що запускає цілий каскад змін. [146]. Блокування цього процесу є однією з мішеней для аналгетичної дії.

ГАМК – головний інгібуючий нейромедіатор [267]. Виділяють кілька підтипів ГАМК. В головному мозку превалює ГАМК-А, в задніх рогах

спинного мозку – ГАМК-В. Відповідно, існує 2 типи ГАМК-рецепторів: хлорид-іонофорний ГАМК-А рецептор і метаботрофний ГАМК-В рецептор. Агоністи ГАМК-А рецепторів (мідазолам) показали ефективність при нейропатичному болю [154, 160]. Також модулюючий вплив на ці рецептори мають нейростероїди (аллопрегнанолон) та речовини, які сприяють їх утворенню (етифоксин). Вони показали ефективність при моделюванні болю, викликаного пошкодженням тканин і нервів [99, 106]. ГАМК-В підвищує проникність клітинної мембрани для іонів K^+ , викликаючи гіперполяризацію, та перешкоджає вивільненню глутамату і субстанції Р в нейронах спинного мозку. ГАМК запобігає розвитку гіпералгезії і алодинії та зменшує емоційно-поведінкову реакцію на біль [136, 186]. Блокатори ГАМК-рецепторів зменшують ефекти енкефалінів та інтенсивність морфінової аналгезії [Ge M. (2019)].

Ендогенна канабіноїдна система. Це гомеостатична регуляторна система, яка впливає на фізіологічні процеси, вегетативну нервову систему, імунні та ендокринні функції [118]. Вона включає ендогенні ліганди (ендоканабіноїди) – анандамід, 2-арахідоноїлгліцерин і канабіноїдні рецептори двох типів CB_1 і CB_2 , які пов'язані з G-білками. Перший тип знаходиться в нейронах спинного мозку, і його агоністи зменшують вивільнення глутамата і зменшення передачі больового імпульсу. Такий ефект особливо важливий в умовах гіпералгезії і аллодинії. Другий тип виявляється в інтернейронах і мікроглії, його агоністи послаблюють її активацію [66, 161, 183, 215, 275].

Доведена опосередкована роль у модуляції болю *ренін-ангіотензинової системи*. Вона приймає участь в формуванні нейропатичного болю через ангіотензинові (AT_2) рецептори сенсорних нейронів. Їх активація сенсibiliзує іонні канали TRPV1, які забезпечують тепловий біль. Так, в доклінічних дослідженнях показано, що експериментальна сполука ЕМА401 (високоселективний інгібітор AT_2 -рецепторів) пригнічує індукований капсаїцином потік Ca^{2+} , а в клінічних дослідженнях виявляє високу ефективність у хворих з постгерпетичною нейропаією [67, 110, 245].

Досліджується роль *орексинів* А і В в механізмах знеболення (гіпокретин-1 і гіпокретин-2 відповідно). Ці нейропептиди утворюються виключно в гіпоталамусі і реалізують свій ефект через пресинаптично розташовані та пов'язані з G-білком рецептори OX_1 і OX_2 , які розташовані в ЦНС та в деяких органах. Їм притаманний вплив на харчову поведінку, на цикл сон-неспанья (пробудження і підтримка неспанья), на систему позитивного підкріплення та розвиток аддиктивної поведінки [55, 72,]. Вони модулюють больові відчуття через стимуляцію гістамінових рецепторів на супраспинальному рівні. Також OX_1 -рецептор може формувати гетероструктури з опіїдними і канабіноїдними рецепторами [127].

На сьогоднішній день активно досліджується роль іонних каналів в механізмах передачі та модуляції болю, які можуть стати «мішенями» для фармакологічної корекції болю [254, 318].

Потенціалзалежні кальцієвих каналів (Ca_v). Розрізняють канали L-, P/Q-, N-, R- і T-типу. Вони лежать в основі багатьох нейронних функцій, включаючи регуляцію клітинної збудливості і опосередкування вивільнення синаптичних пухирців. Велика частина синаптичної передачі в головному і спинному мозку опосередковується кальцієвими каналами P/Q- та N-тип [324, 325]. Рух Ca^{2+} в клітину викликає деполяризацію мембрани і активацію фосфокіназ, що може викликати гіпералгезію [125].

Потенціалзалежні калієві канали (K_v). Існує 4 основних сімейства K_v -каналів, які при активації викликають деполяризацію мембрани за рахунок збільшення вмісту K^+ . Деякі з них пов'язані з антиалодинічною і антигіпералгезивною дією [187, 330].

Потенціалзалежні натрієві канали (Na_v). Відомо, що збудливість будь-яких аксонів певною мірою залежить від Na_v -каналів. Вони експресуються як в ЦНС (Nav1.1, Nav1.2 і Nav1.6), так і в периферичних нейронах (Nav1.7, Nav1.8 і Nav1.9) [97, 171]. Заблокувавши їх можна модулювати певні процеси, в тому числі і біль. Активно ведеться пошук речовин, здатних діяти лише на ці канали, при цьому перевага надається селективним блокаторам Nav1.7, оскільки

встановлено, що у осіб з вродженим дефіцитом цих рецепторів виникає патологічна нечутливість до болю [138, 273, 306].

Ванілоїдні рецептори (TRPV-канали). Це канали транзитного рецепторного потенціалу (TRP-канали), які перетворюють хімічні та/або фізичні сигнали зовнішнього середовища у потенціали клітинної мембрани і далі в коливання концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} . Виділяють 7 підтипів цих каналів: TRPC (канонічні), TRPV (ваніллоїдні), TRPM (меластатинові), TRPA (анкіринові), TRPP (поліцистинові), TRPML (муколіпінові), TRPN (немеханочутливі канали комах). [83, 249]. В модуляції болю найбільшу роль відводять ванілоїдному рецептору TRPV1, який є однією з найважливіших мішеней в пошуку аналгетиків з неопіоїдним механізмом дії. [18, 266]. Він активується фізичними стимулами (температура вище $43\text{ }^{\circ}\text{C}$, зміна рН позаклітинного середовища нижче 6,0) та хімічними факторами: ендогенними (гідроген сульфід, поліненасичені жирні кислоти, окситоцин, ендоканабіоїди (анандамід) та ін.) і екзогенними (тваринні і рослинні токсини) [182, 317]. Серед антагоністів також виділяють ендогенні (харчові омега-3 жирні кислоти (ейкозапентаєнова і ліноленова), лактати) та екзогенні (конкурентний антагоніст капсаїцин і неконкурентний – рутеній червоний [113, 210]. Антагоністи, блокуючи ці рецептори, зменшують біль і можуть бути використані в лікуванні нейропатичного болю [45, 82]. Проте побічні ефекти, наприклад, зниження чутливості до високих температур, що може призвести до випадкових опіків, і розвиток гіпертермії, обмежують їх широке застосування [269].

Пуринергічні рецептори P_2 . Існує 2 типи цих рецепторів: P_2X -ліганд-залежні іонотропні (7 підтипів) і P_2Y , пов'язані з G-білком (8 підтипів), які знаходяться в гінгліях дорсальних корінців і глії. Їх активація призводить до вивільнення прозапальних білків і цитокінів в спинному мозку, сприяючи формуванню больового синдрому [166, 176]. Блокування цих рецепторів сприяє зменшенню болю при запальних процесах та нейропатичному болю. Так,

антидепресант дулоксетин показав анальгезуючу дію на моделях нейропатичного болю шляхом інгібування P_2X_4 рецепторів [316].

1.3 Фармакотерапія больового синдрому. Стан питання та перспективи

В лікуванні больового синдрому використовують три основні класи лікарських засобів:

1. Наркотичні (опіюїдні) аналгетики.
2. Нестероїдні протизапальні засоби та ненаркотичні аналгетики
3. Допоміжні (ад'ювантні) лікарські засоби.

Використання тієї чи іншої групи препаратів залежить від виду больового синдрому та ступеню його вираженості.

Опіюїди були і є найпотужнішими засобами в лікуванні больового синдрому та препаратами вибору при гострій травмі (травматичний шок, опіки), невідкладні стани (наприклад, гострий коронарний синдром, гострий панкреатит), для периопераційного знеболення, в лікуванні хронічного болю, в т.ч. в паліативній медицині [4, 41, 105]. В залежності від впливу на опіатні рецептори наркотичні аналгетики класифікують на [4]:

- переважні агоністи μ -рецепторів (морфін, фентаніл, суфентаніл, кодеїн, оксикодон, оксиморфон, промедол, реміфентаніл та ін.);
- агоністи κ - та антагоністи μ -рецепторів (пентазоцин, налбуфін, буторфанол, дезоцин);
- часткові агоністи μ - та антагоністи κ -рецепторів (бупренорфін, мептазинол);
- повні антагоністи опіюїдних рецепторів (налоксон, налтрексон, налмефін, дипренорфін)
- препарати з подвійним механізмом дії (трамадол, тапентадол).

Ці препарати мають різний аналгетичний потенціал. Найпотужніші - фентаніл і його похідні суфентаніл і реміфентаніл, найслабші – трамадол і кодеїн [319].

Аналгетична дія цих препаратів опосередкована агоністичним впливом переважно на μ -опіатні рецептори. Їх активація в ЦНС викликає інгібування аферентного входу (на рівні спинного мозку), порушення передачі імпульсів на рівні таламусу, стимуляцію ендogenous антиноцицептивної системи та порушує формування негативної емоційної реакції на біль. Збудження рецепторів на периферії порушує активацію ноцицепторів і первинних афферентів больовими подразниками, перериваючи больовий потік «на старті» [223]

В лікуванні хронічного болю опіоїди все частіше рекомендують використовувати в неінвазивних лікарських формах [3, 15]:

- трансдермальні терапевтичні системи (препарати фентанілу «Дюрогезик», бупренорфіну «Транстек»), які забезпечують поступове дозоване всмоктування препарату в кровотік та тривалу дію (до 72 год) [190, 198];

- трансмукозальні форми (назальний спрей фентанілу «Сабсис» або буторфанолу «Буторфанол Тартрат спрей»), буккальні таблетки фентанілу – сублінгвальні таблетки бупренорфіну, які забезпечують швидкий, проте нетривалий ефект (3-6 год), [307];

- таблетовані форми морфіну (МСТ-континус), які дозволяють контролювати больовий синдром до 12 годин і використовувати їх в амбулаторній практиці [221];

Та незважаючи на високу ефективність, клінічне застосування наркотичних аналгетиків обмежене, з одного боку, складністю зберігання, реалізації, контролю, з іншого боку - через різноманітні небажані ефекти: негативний вплив на дихання, серцево-судинну систему, шлунково-кишковий тракт, і, особливо, через високий ризик розвитку зловживання та передозування, яке спричиняє понад кілька десятків тисяч смертей щорічно [175, 299].

Потужну знеболюючу дію демонструють *нестероїдні протизапальні засоби* (НПЗЗ), які, на відміну від наркотичних аналгетиків, також володіють протизапальним і жарознижуючим ефектами [109, 238]. Це найбільш вживані лікарські засоби [58, 90, 216]. З позицій доказової медицини НПЗЗ є найоптимальнішими засобами в терапії больового синдрому, викликаного запаленням (запальні і дегенеративні захворювання опорно-рухового апарату) та в якості компоненту періопераційної аналгезії [50, 117, 153, 216].

Ці засоби класифікують в залежності від їх впливу на різні ізоформи ЦОГ [50]:

- селективні інгібітори ЦОГ-1 – низькі дози ацетилсаліцилової кислоти;
- неселективні інгібітори ЦОГ-1 і ЦОГ-2 – диклофенак, ібупрофен, кетопрофен, декскетопрофен, індометацин та ін;
- селективні інгібітори ЦОГ-2 – німесулід, оксиками (мелоксикам, лорноксикам та ін.), етодолак;
- високоселективні інгібітори ЦОГ-2 – коксиби (целекоксиб, вальдекоксиб, прекоксиб, рофекоксиб, еторикоксиб).

Простагландини є ключовими регуляторами ноцицептивного процесу при запаленні. НПЗЗ пригнічують синтез простаноїдів шляхом блокування метаболізму арахідонової кислоти через блокування циклооксигеназ (ЦОГ-1, ЦОГ-2 та ЦОГ-3). [98]. Конститутивна ЦОГ-1 експресується у багатьох тканинах, на відміну від ЦОГ-2, утворення якої індукується у запалених тканинах, де утворюються простагландини, які знижують больовий поріг чутливих нейронів, ЦОГ-3 – відіграє важливу роль в розвитку болю та жару і виробляється в головному мозку, майже не впливає на запальні процеси [61, 238, 256].

Відомо, що основна дія НПЗЗ реалізується в периферичних тканинах. Проте, є дослідження, в яких показано, що на серотонінергічних нейронах в ЦНС наявні рецептори до простагландину E_2 (EP_3) – основний простагландин запального процесу, активація яких приймає участь в контролі афективного компоненту запального болю. Також доведено, що PGE_2 може сприяти передачі

ноцицептивного сигналу через задній ріг спинного мозку в ділянки мозку, де біль стає свідомим [139, 262].

Найбільш збалансованим по проявам знеболюючої, жарознижуючої і протизапальної дії вважаються неселективні інгібітори ЦОГ-1 і ЦОГ-2, наприклад, диклофенак. При цьому деякі препарати цієї групи мають сильну анагетичну дію при слабкій протизапальній, і навпаки, мають виразну антиінфламаторну дію при недостатньо виразній знеболюючій. Це пояснюється тим, що анагезуюча дія деяких НПЗЗ пов'язана не лише з пригніченням синтезу простагландинів, а й з впливом на нейроактивні речовини, які приймають участь у формуванні больового синдрому [52]. Наприклад, кетопрофен і його правообертальний ізомер декскетопрофен – потужні анагетики з недостатньо виразною протизапальною активністю [38, 144]. Їх анагезуюча дія обумовлена як інгібуванням циклооксигеназ, так і активацією серотонінергічних шляхів та блокуванням NMDA-рецепторів [38].

Все більший інтерес останнім часом спрямовується на оксиками (мелоксикам, лорноксикам, теноксикам), в яких встановлено не тільки антициклооксигеназний механізм знеболюючої і протизапальної дії. Так, відомо, що PGE_2 синтезується трьома різними ферментами: мікросомальною PGE_2 -синтазою 1 (mPGES-1), цитозольною PGE_2 -синтазою (cPGES) та мікросомальною PGE_2 -синтазою 2 (mPGES-2). Саме mPGES-1 є основним ферментом, відповідальним за біосинтез PGE_2 під час запальної реакції. Під час запалення ЦОГ-2 та mPGES-1 швидко індукуються протягом декількох годин прозапальними цитокінами в макрофагах і фібробластах. Оксиками є потужними інгібіторами mPGES-1. [312]. Зменшення синтезу PGE_2 шляхом інгібування мікросомальної синтази дозволяє уникнути типових несприятливих побічних ефектів НПЗЗ: гастро-, нефро- та кардіотоксичність [250].

Проте НПЗЗ можуть викликати негативні реакції з боку ШКТ (нудота, діарея, ерозії ШКТ, виразки, перфорації, кровотечі), нирок, серцево-судинної системи та протромботичну дію [85, 86, 253].

На відміну від НПЗЗ *ненаркотичні аналгетики*, дія яких також опосередкована блокування ЦОГ, мають переважно центральний механізм дії. Так, парацетамол блокує ЦОГ-3 в гіпоталамусі. Механізм дії опосередкований також його активним метаболітом N-арахідоноіл-феноламіном (AM404), який утворюється в ЦНС і діє як інгібітор зворотного захоплення анандаміду в задньому розі спинного мозку [259]. Парацетамол є визнаним ефективним неопіодним аналгетиком для лікування гострого болю. Так, на сьогоднішній день він є препаратом першої лінії в лікування післяопераційного болю як у вигляді монотерапії при болю низької та помірної інтенсивності, так і у складі мультимодальної терапії при інтенсивному больовому синдромі, наприклад, у поєднання з НПЗЗ (ібупрофеном, диклофенаком) або з опіодними аналгетиками. [40]. У збуджених тканинах клітинні пероксидази нейтралізують вплив парацетамолу на ЦОГ, чим пояснюється відсутність у нього протизапального ефекту.

Ще одним ненаркотичним аналгетиком є метамізол натрія (анальгін), ефективність якого не викликає сумнівів. Проте в багатьох країнах на сьогоднішній день він не рекомендується до застосування через розвиток агранулоцитозу [177]. Механізм знеболюючої дії також пов'язаний з блокуванням центральної ЦОГ-3, а також є дані, що він модулює систему опіодних нейропептидів та канабіноїдів, а також демонструє спазмолітичний ефект через блокування трансмембранного току Ca^{2+} [167].

До наркотичних аналгетиків по силі знеболюючого ефекту прирівнюється ще один ненаркотичний аналгетик кеторолак, який найчастіше використовується для лікування післяопераційного болю, травматичного болю та широко застосовується в стоматологічній практиці [9, 204].

Ад'юванти – це фармакологічні засоби, для яких основна дія не анальгетична, проте вони мають суттєвий модулюючий вплив на біль та / або можуть потенціювати дію аналгетиків або зменшувати виразність їх побічних ефектів. Тому їх використовують як у вигляді монотерапії, так і в комплексному лікуванні болю.

До них відносять [20, 248]:

- антидепресанти (трициклічні (амітриптилін, дезипрамін, нортриптилін); селективні інгібітори зворотного захоплення серотоніну і норадреналіну (дулоксетин, венлафаксин))
- протисудомні (першого покоління (карбамазепін, вальпроєва кислота, клоназепам, примидон), другого покоління (габапентин, прегабалін))
- місцеві анестетики (лідокаїн)
- агоністи центральних альфа-адренорецепторів
- нейролептики (галоперидол)
- анксіолітики
- снодійні
- антигістамінні

Антидепресанти не мають виразних аналгетичних властивостей, проте їх рекомендують використовувати в комплексному лікуванні деяких видів нейропатичного болю особливо, якщо больовий синдром супроводжується депресивними розладами. Їх фармакологічна дія передбачає зв'язування з транспортерами норадреналіну та серотоніну (5-НТ), що гальмує зворотне захоплення цих нейромедіаторів та призводить до підвищення рівня норадреналіну та серотоніну у синаптичній щілині [33, 203, 257]. Посилюється нисхідна гальмівна активність, що перешкоджає проведенню болю в ЦНС. Причому в аналгезуючій дії більш важливу роль відіграє саме вплив на рівень норадреналіну. Інгібування його зворотнього захвату опосередковується через α_2 -адренорецептори [235]. До недавнього часу препаратом вибору з цієї групи був амітриптилін [180], особливо при лікуванні постгерпетичного нейропатичного болю. Проте його застосування, як і інших препаратів з трициклічних антидепресантів (дезипрамін, нортриптилін) обмежується суттєвими побічними ефектами (підвищення внутрішньоочного тиску та порушення зору, ортостатична гіпотензія, тахікардія, розлади кровотворення та ін.) [195]. Більш безпечними є селективні інгібітори зворотного захоплення серотоніну і норадреналіну (дулоксетин, венлафаксин), які показані при різних

формах нейропатичного болю, фіброміалгії, мігрени і головному болі. Побічні ефекти у них виникають рідше, менш виразні і проходять, як правило протягом першого тижня лікування. [158, 164].

Антиконвульсанти, які використовуються для лікування нейропатичного болю, поділяють на 2 покоління:

- I покоління – карбамазепін, вальпроєва кислота, фенітоїн, фенобарбітал, етосуксемід;
- II покоління – прегабалін, габапентин, ламотриджин, топірамаат, вігабатрин.

Ці препарати знижують активність NMDA-рецепторів, блокують Na_v -канали та гальмують аферентацію больових імпульсів, а також знижують збудливість центральних нейронів. Зв'язуючись з $\alpha_2\delta$ -субодиницею Ca_v -каналів, вони зменшують трансмембранний потік Ca^{2+} та знижують викид глутамату з пресинаптичних закінчень, гальмуючи ГАМК-ергічні механізми та зменшуючи збудливість нейронів спинного мозку. [19]. Вони виявляють ефективність в лікуванні нейропатичного болю різної етіології: фенітоїн для лікування діабетичної нейропатії, ламотриджин - тригемінальної і глософарінгеальної невралгії, карбамазепін - невралгії трійчастого нерва та діабетичній нейропатії. Проте виразність побічних ефектів (нудота, головокружіння, ністагм, тремор, сухість в роті, сонливість) обмежує їх використання в якості анальгетиків [120, 308].

Не менш ефективними, але з кращим профілем безпеки є габапентиноїди: габапентин і прегабалін. Їх ще називають ліганди $\alpha_2\delta$ -кальцієвого каналу, оскільки їх механізм дії пов'язаний переважно з цим рецептором [179, 208]. Габапентин за структурою подібний до γ -аміномасляної кислоти. Доведена не лише його висока ефективність в лікуванні нейропатичного болю, а й здатність покращувати якість життя хворих через мінімальні побічні ефекти навіть при тривалому застосуванні. Прегабалін є аналогом габапентину з таким самим механізмом дії, але він має більшу спорідненість до пресинаптичного кальцієвого каналу. Якщо ж порівнювати їх між собою, то прегабалін має значно більшу біодоступність і виявляє швидкий позитивний ефект, не впливає

на інші нейромедіаторні системи, сприяє покращенню настрою та сну, що має суттєвий вплив на лікування больового синдрому [246]. Прегабалін рекомендований Європейською федерацією неврологічних товариств в якості препарату першої лінії в терапії діабетичної нейропатії, постгерпетичної невралгії, фіброміалгії і нейрогенного болю центрального генезу, а також його рекомендують використовувати в лікуванні больового синдрому при онкопатології. Також існують повідомлення про ефективність застосування габапентину і прегабаліну в периопераційному знеболенні: призначення його в складі премедикації знижує потребу в опіатах в післяопераційний період до 50 %, а застосування його після операції зменшує виразність больового синдрому до 75 % [227, 229, 242]. Ведеться розробка ще одного препарату з цієї групи – мірогабаліну. Як габапентиноїд, мірогабалін зв'язується з α_2 -субодиницею потенціал-залежного кальцієвого каналу, але з суттєво більшою афінністю, ніж прегабалін [115, 123, 323]. На сьогоднішній день гапапентиноїди є основою ад'ювантної терапії

Альфа2 – адреноміметики. Прототипом агоністів α_2 -адреноміметиків є клонідин. Цей препарат використовується в якості гіпотензивного, як премедикант у пацієнтів із значною тривожністю перед лікуванням, в т.ч. і в дитячій практиці. Також було доведено, що застосування клонідину перед оперативним втручанням дозволяє приблизно на половину зменшити потребу в анестетиках [155]. Ще один препарат цієї групи тизанідин має виразні знеболюючу і анксиолітичну властивості, проте набагато менший вплив на серцево-судинну систему. Його використовують для потенціювання наркозних засобів, для лікування міофасциального болю в ділянці голови і шиї [88, 270]. Високоселективний агоніст α_2 -адренорецепторів дексмедетомідин [173] використовують як заспокійливий засіб для важкохворих пацієнтів, які потребують тривалої седації та механічної вентиляції в умовах критичної допомоги, та для седації в педіатричній практиці перед проведенням діагностичних маніпуляцій. [205]. Останнім часом його пропонують у складі мультимодальної анестезії та післяопераційної аналгезії, оскільки препарат

суттєво зменшує виразність післяопераційного болю, зменшує потребу в наркотичних аналгетиках, а також полегшує вихід хворого з наркозу [13, 111, 188].

Місцеві анестетики. В лікуванні нейропатичного болю місцеві анестетики, наприклад, лідокаїн, використовують у вигляді пластиру або мазі. Місцеві анестетики блокують натрієві канали сенсорних нейронів, сповільнюючи розповсюдження сигналу [116]. Також лідокаїн внутрішньовенно використовують в складі мультимодальної післяопераційної аналгезії при хірургічних втручаннях. Таке застосування лідокаїну знижує потребу в опіоїдах [39, 101, 102, 41]. В останні роки для внутрішнього та післяопераційного знеболення використовують ропівакаїн, який відноситься до амідних місцевих анестетиків. Суттєвою перевагою цього лікарського засобу є керованість та передбачуваність та мінімальний кардіотоксичний ефект [Li K. (2020)]

В якості знеболюючих використовують *засоби, що впливають на глутаматзалежні рецептори.* Прикладом є кетамін (похідне фенциклідину) - антагоніст NMDA-рецепторів. Він також має вплив на опіоїдні, мускарин-чутливі та ГАМК-ергічні рецептори. Препарат послаблює центральну сенситизацію, посилює аналгезію в субанестетичних дозах. Також є дані, що він попереджує розвиток гострої толерантності до опіоїдів та опіоїд-індуковану гіперальгезію при використанні наркотичних аналгетиків короткої дії. Його використання в періопераційний період може зменшувати частоту розвитку хронічного больового синдрому. В якості монотерапії не використовується. Вводять підшкірно короткими курсами (3-5 днів) [80, 310]. Через зазначені рецептори діють також мемантин і агматин. В доклінічних дослідженнях блокатор ділянок гліцинового рецептору іфенпродил продемонстрував анигіпералгічний ефект при запальному процесі, при ураженні нервів та при моделюванні пухлин [131, 213, 313]. В якості антагоніста AMPA-рецепторів досліджувався терзампаніл, який показав ефективність при гіперальгезії, викликаній капсаїцином, при післяопераційному болю [231].

Все більш широке застосування в якості аналгетиків знаходять засоби, що діють на *ендогенну канабіноїдну систему*. Найвідомішими фітоканабіноїдами є Δ^9 -тетрагідроканабінол та канабідіол, у яких встановлено протисудомну, антипсихотичну, анксиолітичну, нейропротекторну та снодійну дії [107, 163]. В експериментальних дослідженнях було продемонстровано, що канабіноїди зменшують гіпералгезію та механічну/термічну аллодинію [96, 151].

Ще одним напрямком в лікуванні хронічного болю є використання *десенситизаторів ванілоїдних рецепторів*. Ці рецептори забезпечують зниження рівня деполяризації мембран аксонів, необхідного для генерації потенціалу дії. Одним з препаратів такого механізму дії є капсаїцин (алкалоїд пекучого перцю). Він селективно стимулює C-немієлінізовані волокна, які забезпечують вивільнення субстанції P. Поступове виснаження запасів цієї речовини в терміналях призводить до зменшення ноцицептивної аферентації в ЦНС і десенситизації ванілоїдних рецепторів. [74, 92]. Його місцеве застосування ефективно при лікуванні пекучого та колючого поверхневого болю. Здатністю до десенситизації ванілоїдних рецепторів володіють також агоністи серотоніну, клонідин, баклофен (антагоніст ГАМК-В), оскільки перешкоджають вивільненню субстанції P на пресинаптичному рівні. [252].

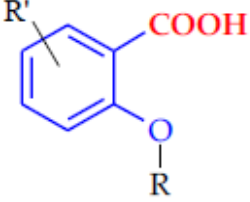
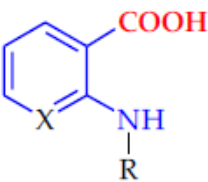
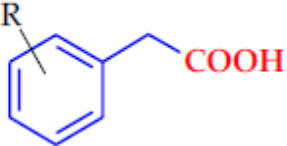
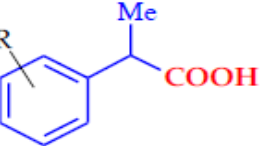
Цікавим є використання в якості знеболюючого засобу метаболітного препарату ацетил-L-карнітину, який має модулюючий вплив на глутамат. Ацетил-L-карнітин-метаботропні рецептори глутамату 2 (mGluR2) експресуються на пресинаптичній мембрані аферентних ноцицептивних волокон у спинному мозку. Вони активуються глутаматом, що виділяється з того самого волокна, на якому вони експресуються (ауторецептори), і блокують потенціал-залежні кальцієві канали, зменшуючи подальше вивільнення глутамату через негативний зворотний зв'язок. Їх можна вважати фізіологічним «гальмом» для контролю активності спинального синапсу. Ацетил-L-карнітин збільшує експресію цих рецепторів mGluR2. Зазвичай його призначають у комбінації з іншими засобами [119, 211, 239].

Отже, клінічна неоднорідність больового синдрому, а також складність і множинність патофізіологічних механізмів, що лежать в його основі, ускладнюють ідентифікацію мішеней для лікування. Тому уніфікованість лікування різних типів больових синдромів на сьогоднішній день, на жаль, неможлива. Сьогодні, з одного боку, продовжують досліджувати вже добре відомі класи аналгетичних засобів, такі як опіоїди, НПЗЗ, протиепілептичні засоби, інгібітори захоплення амінів та ін., з іншого боку, активно ведуться пошуки нових засобів, спрямованих на різноманітні, встановлені останнім часом, механізми і шляхи ноцицепції і антиноцицепції. Знання механізмів різних типів болю дає підставу для розуміння та розробки сучасного медикаментозного лікування.

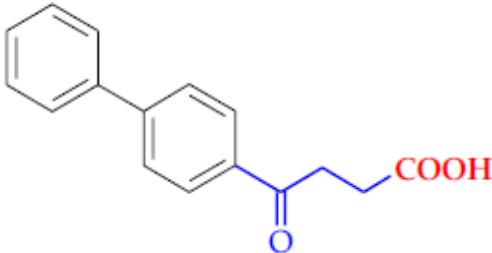
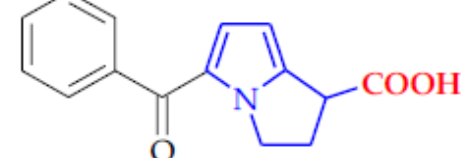
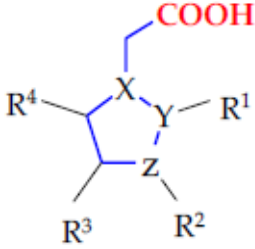
1.4 Похідні карбоксамідів як потенційні засоби в лікуванні больового синдрому

Навіть побіжний огляд довідкових робіт про ліки виявляє той факт, що в арсеналі сучасних ненаркотичних засобів проти болю важлива роль належить різним карбоновим кислотам [174, 228]. За хімічною будовою знеболюючі кислоти можна розділити на кілька груп. Перш за все це, безсумнівно, похідні давно відомої саліцилової кислоти I (табл. 1.2), похідні антранілової та 2-амінонікотинової кислот II ($X = C$ і N відповідно), які за структурою близькі до саліцилової кислоти. Особливо важливі та популярні знеболюючі засоби були створені на основі фенілоцтової кислоти III. Крім того, найбільш широко представлена група аналгетиків, створених на основі 2-фенілпропіонової кислоти IV. Відомими в клінічній практиці є і похідні бурштинової кислоти (фенбуфен V і суксібозон), гетарилкарбонової кислоти (цинхофен, етодолак та клінічно важливий препарат кеторолак VI), а також гетарилоцтові кислоти VII (індометацин, суліндак та ін.)

Біологічно активні сполуки з аналгетичною дією – похідні кислот, які є офіційно зареєстрованими лікарськими засобами [174, 228].

I		Ацетилсаліцилова кислота Діфлунісал Діпіроцетил Фосфосал Гентицінова кислота Нарцеїн Сульфосаліцилова кислота
II		Енфенамова кислота Флуфенамова кислота Мефенамова кислота Толфенамова кислота Клоніксін Флуніксін
III		Актаріт Алклофенак Амфенак Бромфенак Диклофенак Фелбінак Фенклофенак Ібуфенак
IV		Алміпрофен Бенксапрофен Бермопрофен Декскетопрофен Фенопрофен Флурбіпрофен Ібупрофен Індпрофен Кетопрофен Локсопрофен Напроксен Пранопрофен Супрофен

Продовження таблиці 1.2.

V		Фенбуфен
VI		Кеторолак
VII		Клометацин Індометацин Ізофезолак Мофезолак Суліндак Зомепірак

Однак присутність кислотного фрагмента (або такого, який легко перетворюється у нього *in vivo*) є дуже поширеним серед біологічно активних сполук і дуже позитивно відбивається на біологічних властивостях нових молекул [240]. Тому карбонові кислоти завжди представляють особливий інтерес для пошуку нових перспективних «pain killers» [Ukrainets, I.V. (2011)], а їх можливі побічні ефекти усуваються шляхом подальшого хімічного перетворення до лабільних некислотних груп або особливими умовами їх введення.

На особливу увагу заслуговує широко відома група похідних карбонових кислот, амінопіридинів, які широко використовуються в фармацевтичній промисловості як проміжні продукти синтезу численних лікарських препаратів різних фармакологічних груп, в тому числі і аналгетиків [174, 228]. Загальна хімічна структура їх представлена на рис. 1.1.

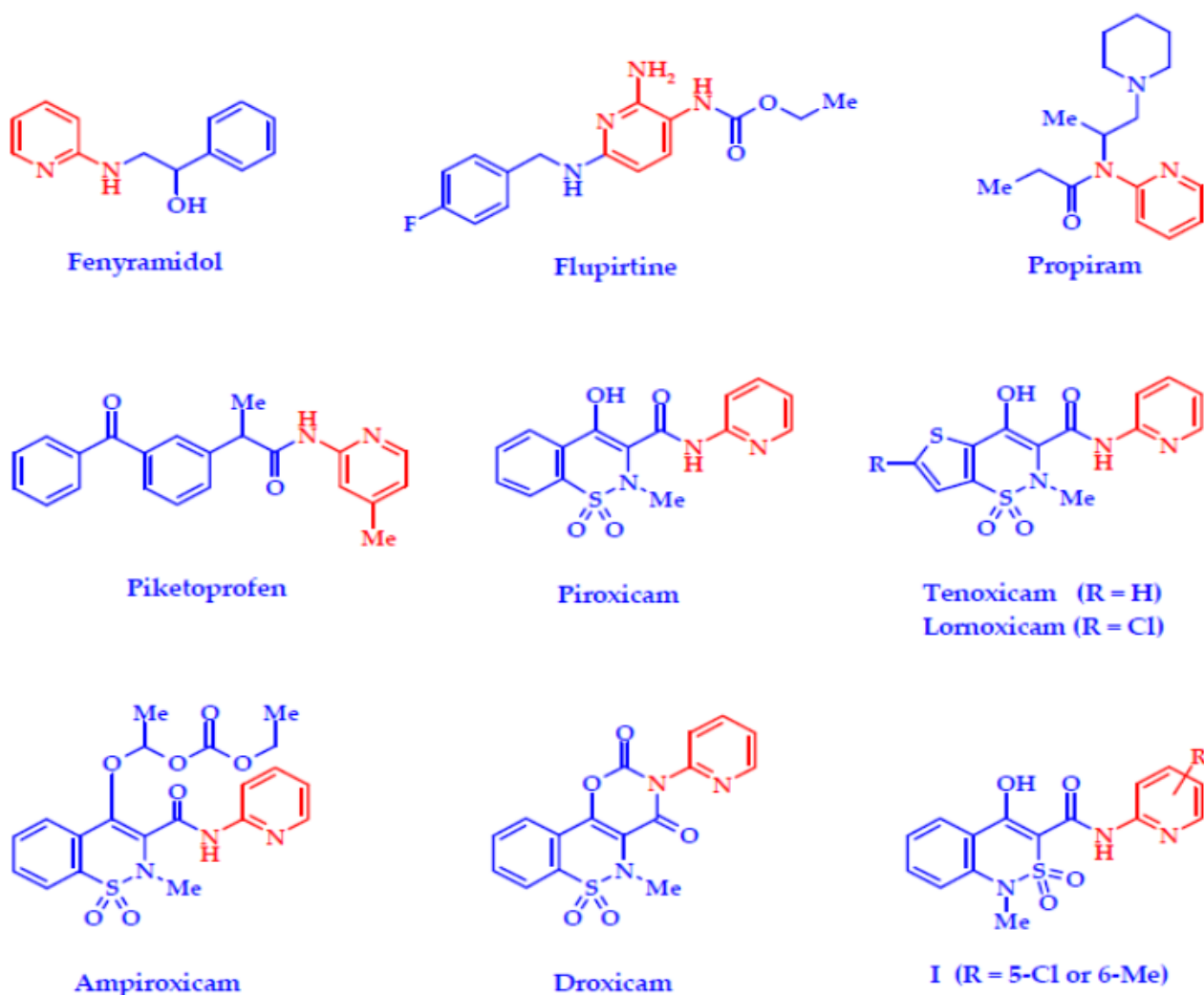


Рис. 1.1 Аналгетичні та протизапальні засоби, створені на основі амінопіридинів [291].

Частіше за все амінопіридиновий фрагмент присутній в молекулі аналгетика у вигляді відповідного N-заміщеного аміду (флупіртин, пропірам, пікетопрофен). Піридин-2-іламід, який має назву піроксикам, був першим комерційно успішним НПЗЗ із вираженим аналгетичним ефектом у групі оксикамів. Пізніше були створені його більш ефективні аналоги – теноксикам та лорноксикам. Цікавими виявились і серія проліків із покращеними фармацевтичними та фармакологічними характеристиками, створені на основі піроксикаму – це ампіроксикам та дроксикам. Ще один представник класу оксикамів – мелоксикам - 4-гідрокси-2-метил-N--2H-1,2-бензотіазин-3-

карбоксамід 1,1-діоксид, один з найвідоміших НПЗЗ, селективний інгібітор ЦОГ-2, широко використовується в сучасній медичній практиці [128, 168].

Тому зрозуміло, що досить цікавим є вивчення структури та біологічних властивостей найближчих структурних аналогів піроксикаму - N-(2-піридил)-4-гідрокси-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів, загальна структурна формула (I) яких наведена на рис. 1.1. Розробки цього напрямку проводяться на кафедрі фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету. Отримані результати дають досить обнадійливі та цікаві перспективи, які свідчать, що біоізостерична заміна в молекулі оксикамів суттєво змінює фармакологічні властивості сполук, і нерідко супроводжується появою молекул із виразною анальгетичною активністю. Так, наприклад, створені за допомогою «flip-flop» технологій [288, 260, 294, 295] відрізняються від піроксикаму взаємним розташуванням сульфо-та аміногруп у бензотіазиновому циклі (див. рис. 1.1). Таке незначне, на перший погляд, перетворення основної молекули призвело до помітного підвищення знеболюючої активності – деякі піридиламіди, як свідчать дані літератури, пригнічують больову реакцію в три рази сильніше за піроксикам в тій же дозі [295]. Логічне продовження і подальший розвиток цього напрямку пошуку для нових біологічно активних речовин є перехід на 4-метилзаміщені аналоги сполук цієї хімічної будови, включення замісників в хімічну будову основної молекули, отримання стереотаксичних ізомерів та рацематів, а також вивчення їх ефективності та безпечності, що може стати експериментально-теоретичним обґрунтуванням для створення на їх основі нових лікарських засобів з покращеним фармакологічним профілем для лікування захворювань, що супроводжуються больовим синдромом.

Саме цим питанням і присвячена дана робота.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ, МОДЕЛІ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ


2.1 Характеристика тест-зразків

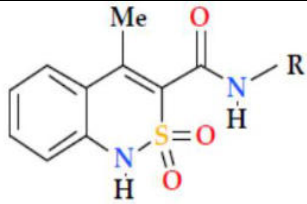
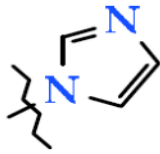
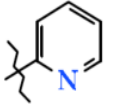
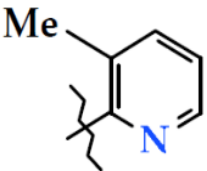
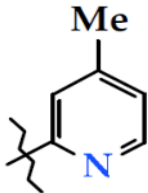
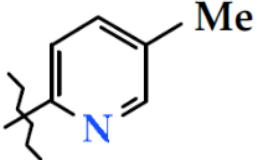
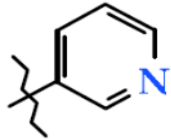
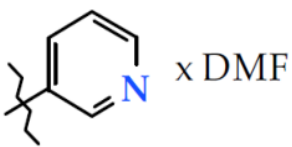
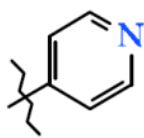
В якості об'єктів дослідження було обрано ряд похідних *N*-*R*-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду та їх структурних аналогів, синтезованих на кафедрі фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора Українця Ігоря Васильовича. Широкий фармакологічний потенціал сполук цього класу дає підставу сподіватись на наявність у них знеболюючої дії, що і стало підставою для проведення даного дослідження [287].

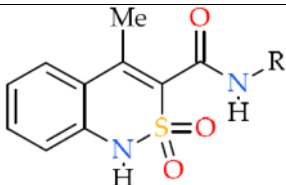
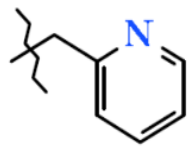
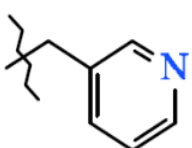
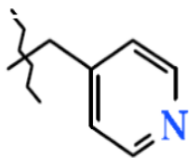
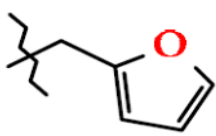
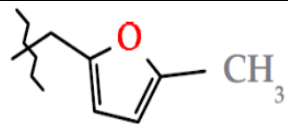
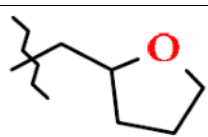
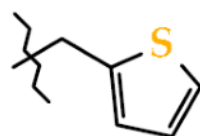
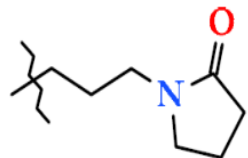
В дослідженні вивчались сполуки наступної хімічної будови (табл. 2.1 та 2.2):

Таблиця 2.1

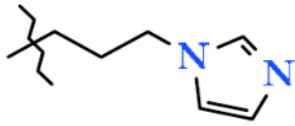
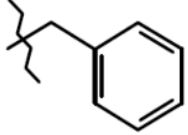
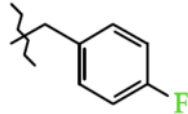
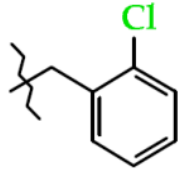
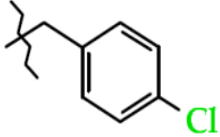
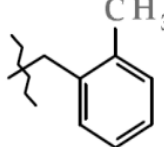
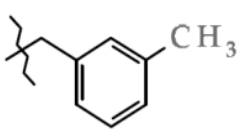
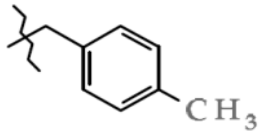
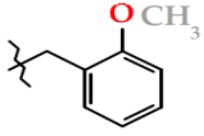
Хімічна будова сполук – похідних 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин карбонова кислота та її натрієва сіль

Сполука, лабораторний шифр	R	Хімічна назва
		4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин карбонова кислота та її натрієва сіль
NI-73	H	4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти моногідрат
NI-74	Na	Натрію 4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти моногідрат

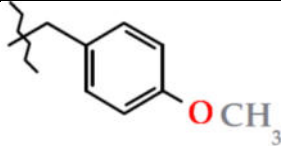
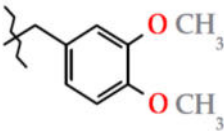
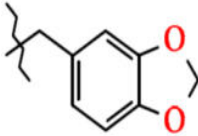
Сполука, лабораторний шифр	R	Хімічна назва
		N-піридил-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксаміди
NI-88		4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти імідазолід
NI-83		N-(піридин-2-іл)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-85		N-(3-метилпіридин-2-іл)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-86		N-(4-метилпіридин-2-іл)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-87		N-(5-метилпіридин-2-іл)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-82		N-(піридин-3-іл)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-84		N-(піридин-3-іл)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід N,N-діметилформаїд моносолюват
NI-81		N-(піридин-4-іл)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід

		N-Гетарил(арил)алкіл-4метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ , 1-бензотіазин-3-карбоксаміди
1	2	3
NI-25		N-(піридин-2-ілметил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-26		N-(піридин-3-ілметил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-27		N-(піридин-4-ілметил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід monohydrate
NI-29		N-(фуран-2-ілметил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-28		N-(5-метилфуран-2-ілметил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-31		N-(тетрагідрофуран-2-ілметил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-30		N-(тіофен-2-ілметил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-32		N-[3-(2-Охорурролідін-1-іл)-пропіл]-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід

Продовження таблиці 2.1.

1	2	3
NI-33		N-(3-імідазол-1-ілпропіл)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-1		N-бензил-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-2		N-(4-фторбензил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-3		N-(2-хлорбензил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-4		N-(4-хлорбензил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-5		N-(2-метилбезил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-6		N-(3-метилбензил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-7		N-(4-метилбензил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-8		N-(2-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід

Продовження таблиці 2.1.

1	2	3
NI-9		N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-10		N-(3,4-діметоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-11		N-(1,3-бензодіоксол-5-ілметил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід

Таблиця 2.2

Хімічна будова сполук – стереотаксичних ізомерів N-(1-арилетил)-аміди 4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти

Сполука, лабораторний шифр	Конфігурація хірального центра	R	Хімічна назва
1	2	3	4
N-(1-арилетил)-аміди 4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти			
NI-12	(S)	H	N -[(1S)-1-фенілетил]-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-16	(S)	OMe	N -[(1S)-1-(4-метоксифеніл)етил]-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід

Продовження таблиці 2.2.

1	2	3	4
NI-13	(R)	H	<i>N</i> -[(1R)-1-фенілетил]-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-17	(R)	OMe	<i>N</i> -[(1R)-1-(4-метоксифеніл)етил]-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамід
NI-14	(±)	H	Рацемічна форма <i>N</i> -(1-фенілетил)-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксаміду
NI-18	(±)	OMe	Рацемічна форма <i>N</i> -[1-(4-метоксифеніл)етил]-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксаміду
NI-15	(S) + (R)	H	Механічна суміш оптично активних <i>N</i> -(1-фенілетил)-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксаміду
NI-19	(S) + (R)	OMe	Механічна суміш оптично активних <i>N</i> -[1-(4-метоксифеніл)етил]-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксаміду

2.2 Характеристика лабораторних тварин

Експериментальна частина роботи виконана на білих нелінійних щурах та мишах обох статей, розводки віварію Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, а також щурах-самцях лінії Вістар, отриманих з віварію ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН

України», які утримувались в умовах віварію ВНМУ імені М. І. Пирогова. До початку дослідження тварин утримували 14 днів для адаптації в умовах віварію, а за 1 добу перед дослідженням переносили до лабораторії кафедри фармакології. Весь цей період у тварин щоденно контролювали клінічний стан шляхом візуального огляду. Якщо під час огляду у лабораторних тварин були помічені відхилення, таких тварин не включали в експериментальні групи. Перед початком експерименту тварини були розподілені по групах шляхом блочної рандомізації, з використанням генератора випадкових чисел в статистичній програмі Statistica 6.0. Кожна відібрана тварина була маркірована перманентним маркером. Протягом експерименту тварини знаходились в стандартних умовах в полікарбонатних клітках зі сталевими решітчастими кришками та кормовим заглибленням. В якості підстилки використовували деревну тирсу. Лабораторних тварин годували комбікормом, збалансованим за всіма нутрієнтами та поїли охолодженою кип'яченою водою *ad libitum*. Світловий режим складав 12 год світла та 12 год темноти. Температура повітря підтримувалась в межах 18-22 °С, відносна вологість повітря – 50 ± 5 % [23, 27].

Усі експерименти проводили відповідно до рекомендацій ДЕЦ МОЗ України «Доклінічні дослідження лікарських засобів» [54] та у відповідності до загальних етичних принципів експериментів на тваринах, регламентованих положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р., зі змінами, 1998 р.) та Законом України № 3447-IV від 21.02.2006 р. зі змінами «Про захист тварин від жорстокого поводження» [129.] Комісією з біоетики ВНМУ імені М. І. Пирогова (протокол № 4 від 13 травня 2021 р.), порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не було виявлено. Ідентифікацію тварин проводили з використанням системи індивідуальних кольорових міток на тілі, при проведенні досліджень враховувались сезонні та циркадні ритми тварин.

Відповідно до мети та завдань дослідження всі експериментальні тварини були поділені на такі групи (табл. 2.3):

Розподіл експериментальних тварин згідно етапів дослідження

№	Етапи дослідження	Щури	Миші
1	Скринінгові дослідження аналгетичної та протизапальної активності N-гетарил(арил)алкіл-заміщених 4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбоксамідів	205	
2	Дослідження гострої токсичності найбільш активних сполук-похідних бензотіазин-карбоксамідів за їх внутрішньочеревного введення		141
3	Дослідження гострої токсичності сполуки-лідера серед похідних бензотіазин-карбоксамідів та референс-препаратів за їх внутрішньошлункового введення	133	
	Дослідження середньої ефективної дози сполуки-лідера та референс-препаратів	140	
4	Дослідження аналгетичних властивостей N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти Модель оцтово-кислих корчів Модель “tail-flick” Модель ад’ювантного артрити Модель діабетичної нейропатії		40
		28	
		35	
		35	
5	Оцінка ульцерогенного потенціалу N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти	35	
6	Вивчення механізмів аналгезуючої дії N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1 <i>H</i> -2λ ⁶ ,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти	189	
	Всього	801	181

В дослідженні використані такі речовини, препарати та реактиви:

Тест-зразки нових оригінальних похідних N-R-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ6,1-бензотіазин-3-карбоксаміду та їх структурних аналогів, синтезованих на кафедрі фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету під керівництвом проф. І. В. Українця. Досліджувані тест-зразки у вигляді водної суспензії, стабілізованої 5 % водним розчином Tween-80 (Sigma, USA), вводили внутрішньочеревно або внутрішньошлунково в залежності від мети експерименту. Тварини контрольних груп отримували еквіоб'ємні кількості води та Tween-80. В якості референс-препаратів використовували диклофенак-натрію («Вольтарен», Novartis), лорноксикам («Ксефокам», Takeda Austria GmbH, Austria.) та мелоксикам («Моваліс», Boehringer Ingelheim, Ingelheim am Rhein, Germany). Для оцінки протизапальної активності використовували субстанцію карагеніну (Sigma, USA).

Під час дослідження деяких механізмів дії сполуки-лідера використовували фармакологічні аналізатори: налоксон (субстанція, «ІНТЕРХІМ»), налбуфін (розчин для ін'єкцій 20 мг/мл, Русан Фарма, Лтд, Індія), клонідин (субстанція, ТДВ «Інтерхім»), йохімбін (табл. 5 мг, ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», м. Харків, Україна), фенілефрин (розчин для ін'єкцій, 1 %, ТОВ «Дослідний завод «ГНЦЛС», Харків, Україна), празозин (таблетки, «Ratiopharm International GmbH», Німеччина), ізопреналін (субстанція, Sigma, USA), пропранолол («Анаприлин», таблетки 40 мг, Actavis LTD, Мальта), хлорпромазин (розчин для ін'єкцій, 25 мг/мл, ООО «Харьковское фармацевтическое предприятие «Здоровье народу»), наком (таблетки, Lek Pharmaceuticals d. d., Slovenia), діазепам (розчин 2 мл (5 мг/мл) в ампулах, «Elegant India», Індія), флумазеніл (субстанція, Sigma, USA), мемантин (субстанція, «Megafine Pharma, (P) Ltd»). Препарати вводили в діапазоні терапевтичних доз, які запозичені з літератури [14, 178] і які згідно вимог ДФЦ МОЗ України по доклінічному вивченню лікарських засобів [54] рекомендуються для експериментальних досліджень.

2.3 Фармакологічні методи дослідження

Всі фармакологічні дослідження виконані на базі сертифікованої МОЗ України лабораторії кафедри фармакології ВНМУ імені М. І. Пирогова (свідоцтво про переатестацію № 023/13 від 05.03.2013 р., свідоцтво про технічну компетентність №030/18 від 1 листопада 2018 р., чинне до 31 жовтня 2023 р.). Автор висловлює вдячність доценту кафедри фармакології к.мед.н.

І. В. Тарану за допомогу при проведенні експериментальних досліджень.

Скринінгові дослідження анальгезуючої та протизапальної дії сполук, що досліджувались, проводили на моделі **гіпералгезії та ексудативної реакції, викликаній введенням 0,1 мл 1% розчину карагеніну** (сульфатованого полісахариду із ірландського морського моху) під подошвенний апоневроз експериментальній фармакології для виявлення та оцінки нових фармакологічно активних речовин, які потенційно розглядаються як НПЗЗ [54]. Відомо, що ексудативна фаза запалення, яка настає після альтерації тканин, відіграє важливу роль у розвитку всього комплексу тканинних змін при запаленні. Провідним механізмом у розвитку ексудативної реакції є порушення проникності судин мікроциркуляторного русла, яке розвивається під дією медіаторів запалення. У перші 30-90 хв патогенезу розвитку карагенінового набряку приймають участь гістамін та серотонін, в інтервалі між 1,5-2,5 год – кінініни, а між 2,5-5,5 год – ПГ [54, 206]. Щурам дослідних груп через 1 год після введення карагеніну внутрішньочеревно (в/оч) вводили сполуки, що досліджували, тварини контрольної групи отримували еквіоб'ємну кількість розчинника.

Ступінь ноціцепції та **анальгезуючу дію** сполук визначали за допомогою долориметра (Dolorimeter Baseline, USA) шляхом оцінки порогу больової чутливості (ПБЧ) – мінімальний тиск на нижню поверхню стопи щура (г/мм^2), який викликав больову реакцію у тварини (вокалізацію та / або відсмикування лапки).

Аналгетичну активність досліджуваних сполук та препаратів порівняння

оцінювали за їх здатністю збільшувати ПБЧ у дослідних групах у порівнянні з групою контролю і виражали у відсотках; розрахунок проводили за формулою:

$$AA = \frac{ПБЧ_д}{ПБЧ_к} \cdot 100$$

де AA – аналгетична активність у %;

ПБЧ_к – середній показник мінімального тиску, що викликав больову реакцію у тварин групи контролю;

ПБЧ_д – середній показник мінімального тиску, що викликав больову реакцію у тварин дослідної групи.

Виразність *запальної реакції* оцінювали через 3 год після індукції запалення (піку розвитку запального процесу), вимірювали об'єм здорової та набряклої кінцівки (мм³) за допомогою плетизмометра Plethysmometer (Ugo Basile, Italy). Антиексудативну активність визначали за ступенем зменшення набряку у дослідних тварин у порівнянні з тваринами групи контролю та виражали у відсотках і розраховували за формулою:

$$AEA = \frac{\Delta V_к - \Delta V_д}{\Delta V_к} \times 100$$

де AEA – антиексудативна активність у %;

$\Delta V_к$ – середня різниця в об'ємі між набряклою та ненабряклою лапами в групі контролю;

$\Delta V_д$ – середня різниця в об'ємі між набряклою та ненабряклою лапами в дослідній групі.

Гостру токсичність досліджуваних сполук вивчали при одноразовому в/оч введенні білим мишам з масою тіла 18-20 г, з використанням експрес-методу за Т. В. Пастушенко і співавт. [44].

Для найбільш активних сполук визначали показник LD₅₀ та ED₅₀ за їх внутрішньошлункового (в/шл) введення методом найменших квадратів за В. Б. Прозоровським [46] та графічним методом [30]. Отримані результати

порівнювали із такими у відомих препаратів – неселективних інгібіторів ЦОГ-1 та ЦОГ-2 диклофенаку та лорноксикаму, а також селективного інгібітора ЦОГ-2 мелоксикаму.

Для більш поглибленого дослідження анальгезуючої дії найбільш активних сполук та встановлення тривалості антиноцицептивного ефекта використовували модель соматичного болю центрального генезу - *термічне подразнення («tail-flick»)*. Антиноцицептивну активність оцінювали за термічного подразнення верхньої третини хвоста щура за допомогою сфокусованого променя світла за допомогою анальгезиметра (Ugo Basile, Italy). Оцінювали латентний час відсмикування хвоста від джерела променя, виражений в секундах. Тварини були рандомізовані відносно вихідного значення латентного періоду (ЛП), в дослід увійшли щури, у яких цей показник становив від 4 до 12 с. Виразність антиноцицептивного ефекту оцінювали за збільшенням тривалості ЛП [54]. При підвищенні ЛП (порогу больової чутливості) більше 25 с, подальше дослідження припиняли для попередження термічного опіку тварини. Порівнювали вихідні показники тривалості ЛП та зміни його через 1, 2, 3 та 4 год після введення досліджуваної сполуки та референс-препаратів у % відносно фонового показника, прийнятого за 100 % [152, 298].

Моделювання синдрому *вісцерального болю – модель «оцтовокислі корчі» у мишей* [36, 54] проведено шляхом моделювання специфічної больової реакції (корчів). Характерні рухи тварин включали скорочення та розслабленням черевних м'язів, витягування задніх кінцівок і прогибання спини тварин у відповідь на в/оч введення 0,6 % розчину оцтової кислоти, який готували з льодяної оцтової кислоти (х/ч; 99,8 %) безпосередньо перед початком уведення тваринам. Розчин оцтової кислоти в об'ємі 0,1 мл/10 г миші вводили через 60 хв після в/шл введення сполук, що досліджувались. Контрольним тваринам в/шл вводили лише 0,6 % розчин оцтової кислоти в еквіоб'ємній кількості.

Тварин після введення розчину оцтової кислоти поміщали на паперову підстилку, розташовану на лабораторному столі, та накривали спеціальним скляним ковпаком з отвором для вільного доступу повітря.

Підрахунок числа корчів проводили з 1-ї по 20 хв (включно) після моделювання патологічного стану. Критерієм наявності та ступеню виразності аналгетичного ефекту вважали відсоток інгібіції числа корчів відносно контролю.

Больову чутливість за умов *хронічного запального процесу* визначали за умов ад'ювантного артриту (АДА) у щурів, який моделювали введенням під подошвений апоневроз задньої правої лапи 0,1 мл повного ад'юванта Фрейнда (Thermo Fisher scientific, США) [49, 54,]. Ця модель є найбільш поширеною в експериментальній фармакології, вона викликає системний запальний процес, яке супроводжується ураженням тканин суглобів і є близьким до патогенезу і морфофункціональних змін при колагенових захворюваннях у людей [63, 71]. Введення препаратів починали з 14 дня (піку розвитку автоімунного запального процесу). Дослідження проводили на 14 та 28 добу після інокуляції ад'юванту. Тварини були розподілені на 5 груп (по 7 тварин у кожній), перша група – умовно здорові щурі (позитивний контроль), друга група – тварини, з АДА без лікування (негативний контроль). До третьої, четвертої та п'ятої груп входили тварини, яким на тлі розвитку АДА в/шл вводили окремо сполуку що досліджували та препарати порівняння. Тварини контрольної групи отримували еквіоб'ємну кількість розчинника за аналогічних режимів та способів введення. Ступінь ноцицепції та аналгезуючу дію сполук визначали за допомогою долориметра (Dolorimeter Baseline, USA) шляхом оцінки ПБЧ – мінімальний тиск на нижню поверхню стопи щура (г/мм²), який викликав больову реакцію у тварини (вокалізацію та/або відсмикування лапки). Порівнювали ПБЧ на правій кінцівці до початку дослідження (вихідне значення), а також на 14-ту та 28-му добу відповідно.

Моделювання нейропатичного больового синдрому відтворювали на моделі діабетичної полінейропатії у щурів, яка розвивалась на тлі цукрового

діабета (ЦД), викликаного одноразовим в/оч введенням стрептозотоцину (Sigma, USA) дозою 60 мг/кг в холодному 0,1 М цитратному буфері (pH = 4,5, t = +4 °C) [1, 64]

Стрептозотин (СТЗ) індукований ЦД – одна з найбільш часто використовуваних моделей для відтворення такої патології. СТЗ – 2-деокси-2-[[метилнітрозоаміно)кариніл]аміно)-D-глюкопіраноза – представляє собою антибіотик, який продукується *Streptomyces achromogenes*. Він вибірково проникає в бета клітини за допомогою переносчика GLUT-2. Панкреатотоксичність СТЗ значною мірою пов'язана із алкілюючою спроможністю його метильної групи, яка викликає фрагментацію ДНК бета-клітин. В подальшому розвивається дефіцит запасів кофактора NAD⁺, а потім і енергетичних субстратів у вигляді АТФ, що в кінцевому результаті призводить до некрозу бета-клітин. Додатковим механізмом дії СТЗ є активація ксантиноксидази, що сприяє розвитку окислювального стресу і загибелі клітин. В літературі для моделювання СТЗ-ідукованого діабета зазвичай використовують одноразове в/оч або внутрішньовенне введення СТЗ в дозі 40-80 мг/кг маси тварини. Розвиток ЦД підтверджується рівнем глікемії вище 15 мМ/л. Алодинія та уповільнення проведення нервового імпульса виникають вже на 2-4-му тижні після введення СТЗ, однак для формування структурних змін в нервових волокнах необхідно до 8-16 тижнів. Хоча високі дози СТЗ нейротоксичні, переконливо доведено, що нейропатія, яка виникає за СТЗ-діабета, є найбільш співставною з такою у людини [1].

Тварини були розподілені на наступні групи: 1 група – ЦД без лікування (негативний контроль); тваринам 2, 3 та 4 груп на тлі розвитку цукрового діабету в кінці 6-го тижня одноразово вводили сполуку NI-9, мелоксикам та габапентин, відповідно. Оцінювали зовнішній вигляд тварин, зміни харчової та водної поведінки. Фіксували виживаність тварин протягом всього терміну дослідження. Перед початком експерименту, а також кожні 7 днів у щурів визначали масу тіла, рівень глюкози в крові (за допомогою портативного глюкометра та тест-смужок), а також больову перцепцію за допомогою

долориметра (Dolorimeter Baseline, USA) шляхом визначення ПБЧ – мінімальний тиск на верхню поверхню стопи щура (г/мм^2), який викликав больову реакцію у тварини (вокалізацію та/або відсмикування лапки). Крім того, візуально визначали стан ушкоджених кінцівок (ураження нігтів та фаланг пальців).

2.4 Дослідження гастротоксичної дії речовин

З метою визначення потенційної гастротоксичної дії сполуки, що вивчалась, у інтактних тварин за тривалого введення, піддослідні щури були поділені на декілька груп. Тваринам дослідних груп в/шл один раз на день протягом 28 діб вводили сполуку NI-9 та найбільш близький за хімічною будовою препарат мелоксикам в їх умовно-ефективних антиноцицептивних дозах (ED_{50}), які становили, відповідно 3 та 5 мг/кг. Тварини групи контролю отримували розчинники за аналогічних режимів та способів введення. [36]. На 29 добу експерименту після визначення маси тіла, тварин виводили з дослідження шляхом цервікальної дислокації згідно з вимогами біоетики. Шлунки вилучали, розрізали за великою кривизною, промивали фізіологічним розчином. Оцінку ульцерогенної дії сполук щодо слизової оболонки шлунка проводили за макроскопічними ознаками: відсоток щурів у групі з гіперемією та окремо зі зглаженістю слизової оболонки шлунка (СОШ), відсоток тварин з деструкціями СОШ (ерозіями та виразками), середня площа виразок в балах [54]. Ступінь ушкодження СОШ за 4-бальною шкалою: 0 – відсутність ушкоджень; 0,5 – гіперемія; 1 – одиничні незначні ушкодження; 2 – множинні ушкодження (ерозії, точкові крововиливи); 3 – значні та множинні ушкодження СОШ; 4 – серйозні пошкодження (масивні крововиливи, ерозії, перфорації). Множинність пошкодження оцінювали як середню кількість виразок на одну тварину. Важкість виразок розраховували як середню суми добутків – кількість виразок \times ступінь важкості. Виразковий індекс (VI) вираховували за формулою [54]:

$$BI = \frac{\text{середня арифметична суми балів} \times \% \text{ тварин з виразками}}{100}$$

2.5 Біохімічні методи дослідження

Біохімічні методи дослідження виконані в науково-дослідній клініко-діагностичній лабораторії кафедри біологічної та загальної хімії ВНМУ імені М. І. Пирогова, сертифікованої МОЗ України (свідоцтво МОЗ України про переатестацію № 002/10 від 11 січня 2010 р.; № 049/15 від 02.03.2015 р.). Автор вдячний науковому співробітнику проф. А. В. Мельнику за кваліфіковану допомогу в проведенні біохімічних та електрофізіологічних досліджень.

При проведенні біохімічних досліджень у піддослідних тварин виділяли шлунок (див. розділ 2.4). отримували СОШ, перфузували холодним 1,15 % розчином КСІ і гомогенізували при 3000 об/хв (тефлон-скло) в середовищі 1,15 % КСІ (співвідношення 1:3). Гомогенати центрифугували протягом 30 хв при 600 g, відбирали аліквоти постядерного супернатанту в мікропробірки Eppendorf і до проведення досліджень зберігали при температурі 20 °С. Матеріалом для дослідження слугував постядерний супернатант гомогенату СОШ.

Досліджувані біохімічні показники:

1. Вміст глікозаміногліканів (ГАГ, мг/г тканини)
2. Вміст малонового діальдегіду (МДА, нмоль/мг протеїна)
3. Рівень карбонільних груп протеїнів (КГП, нмоль/мг протеїна)

4. Рівень загальних фосфоліпідів (ЗФЛ, мкг/мг протеїна) та їх фракцій - фосфатидилхоліну (ФХ, мкг/мг протеїна), фосфатидилетаноламіну (ФЕ, мкг/мг протеїна), лізофосфатидилхоліну (ЛФХ, мкг/мг протеїна).
5. Вміст гідроген сульфїду (H_2S , нмоль/мг протеїна)
6. Рівень стабільних метаболітів нітроген монооксиду - $NO_2^-+NO_3^-$ (нмоль/г тканини)

Вміст білка оцінювали мікробіуретовим методом [29], рівень малонового діальдегіду (МДА) - за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [12], карбонільних груп білків (КГ) - за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином [62]. Рівень глікозаміногліканів (ГАГ) визначали за рівнем гексозамінів реакцією з пара-диметилбензальдегідом [196]. Вміст фосфоліпідних фракцій визначали методом тонкошарової хроматографії на силікагелі Л5/40 (Chemapol, Чехія) з використанням розчинників хлороформ-метанол-вода у співвідношенні 65:30:5 (за об'ємом). Фракції фосфоліпідів фосфатидилхолін (ФХ), лізофосфатидилхолін (ЛФХ), фосфатидилетаноламін (ФЕА) ідентифікували за допомогою якісних реакцій та за величинами R_f , а їх кількісний вміст визначали після хроматографії за реакцією з фосфорнованіліновим реактивом [26]. Вміст метаболітів оксиду азоту - нітритів та нітратів визначали за реакцією з реактивом Гріса - 0,2 % на 12 % розчині етанової кислоти [28], після попереднього осадження білків ацетонітрилом. Нітрати попередньо відновлювали до нітритів сумішшю, яка містила цинковий порошок та розчин аміаку. Вміст H_2S в сироватці крові визначали спектрофотометричним методом, який оснований на утворенні тіоніну в реакції між сульфід аніоном та пара-фенілендіаміном гідрохлориду у кислому середовищі в присутності іонів заліза (III) [22].

2.6 Методика реєстрації скоротливості гладком'язових препаратів судин

Реєстрацію скоротливої активності ізольованих препаратів судин проводили в режимі, що наближався до ізометричного за допомогою

тензометричної установки, створеної в ДУ «Інститут фізіології АМН України ім. О.О. Богомольця», за загальноприйнятою методикою [57]. Мезентеріальну артерію виділяли, звільняли від сполучної та жирової тканин на зовнішній поверхні, розрізали на кільцеві сегменти шириною 2-3 мм. Отримані гладком'язові препарати судин поміщали в тефлонову камеру між гачком і датчиком напруження та витримували в ізометричному режимі протягом 60 хв під постійним навантаженням 1,5-2,0 г. Через тефлонову камеру пропускали стандартний буферний розчин Кребса температури 36 °С, рН 7,4 з постійною швидкістю 2,5-3,0 мл/хв. Реєстрацію скорочувальної активності проводили за допомогою аналогово-цифрового перетворювача Lab-Trax 4/16 («World Precision Instruments», США), з'єданого з персональним комп'ютером. H_2S -стимульоване розслаблення оцінювали наступним чином: 1) визначали показник ізометричного напруження фрагментів мезентеріальних артерій, передскорочених фенілефрином ($10^{-6}M$), який представляли за 100%; 2) оцінювали показники ізометричного напруження мезентеріальних артерій, передскорочених фенілефрином ($10^{-6}M$), після перфузії їх розчинами (протягом 15 хв кожний), що містили відповідно фенілефрин ($10^{-6}M$) та донор H_2S ($Na_2S \cdot 9H_2O$) в концентраціях від $10^{-2}M$ до $10^{-6}M$; 3) вираховували рівень H_2S -стимульованого розслаблення у відсотках відносно показника ізометричного напруження мезентеріальних артерій після їх перфузії розчином, який містив лише фенілефрин. Для визначення впливу сполуки NI-9 та мелоксикаму на H_2S -стимульоване розслаблення кільцеві фрагменти мезентеріальних артерій попередньо інкубували протягом 3 годин з відповідними розчинами (в яких кінцева концентрація сполуки NI-9 та мелоксикаму становить 50 мкМ).

Розрахунки середньої ефективної концентрації (EC_{50}) проводили шляхом апроксимації S-подібними кривими отриманих експериментальних значень.

2.7 Методика проведення докінг-аналізу

Молекулярний докінг здійснювали за допомогою програм AutoDock Vina та AutoDockTools4 [222]. Як біомішень використали макромолекули з Protein Data Bank: COX-2 (PDB ID – 4M11). Конструювання віртуальної бази структур кандидатів здійснювали за допомогою програми BIOVIADraw 2017R2 і зберігали у форматі mol. Структури оптимізовані програмою Chem3D з використанням молекулярно-механічного алгоритму MM2, збережено у форматі .pdb., за допомогою AutoDockTools-1.5.6 перетворено на .pdbqt [282]. Discovery Studio Visualizer 2017/R2 використовували для видалення розчинника та нативного ліганду з vfrhjvjktrkb. Білки було збережено у форматі .pdb. У AutoDockTools-1.5.6 до структури білка додано полярні атоми гідрогену та збережено у форматі .pdbqt. Розмір Grid box та його центр було визначено за нативним лігандом: $x = -16.47$, $y = 44.11$, $z = 34.56$; розмір $x = 26$, $y = 18$, $z = 24$.

Для молекулярного докінгу було використано макромолекулу ензиму COX-2 кристалізовану у конформації з мелоксикамом [311].

Оцінку результатів докінгу досліджуваного ліганду проводили за параметром енергії зв'язування (ккал/моль) щодо референс-ліганду, за видом та кількістю взаємодії з амінокислотними залишками активного сайту та за просторовим положенням в порожнині гідروفобної кишені.

2.8 Методика статистичної обробки отриманих даних

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили методами варіаційної статистики [31]. Визначення характеру розподілу ознак у виборці здійснювали за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Для множинних порівнянь даних з нормальним розподілом проводили параметричний однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA та застосовували метод Н'юмена-Кейлса, дані представляли як середню (M) та похибку середньої (m). В інших випадках використовували ранговий аналіз варіацій за Крускалом-Уоллісом та

порівняння вибірок за допомогою критерію Мана-Уїтні. Результати вважали статистично значущим при $p < 0,05$. Всі використані при виконанні даної роботи одиниці вимірювання та параметри наведені у відповідності до міжнародної системи одиниць [32].

РОЗДІЛ 3

СКРИНІНГ АНАЛГЕТИЧНОЇ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ
ПОХІДНИХ *N*-АРИЛ(ГЕТАРИЛ)-4-МЕТИЛ-2,2-ДІОКСО-1*H*-2Λ⁶,1-
БЕНЗОТІАЗИН-3-КАРБОКСАМІДІВ

Клас похідних бензотіазин-3-карбонових кислот є досить перспективним для створення нових високоефективних та безпечних знеболюючих засобів навіть попри те, що речовини з вільною карбоксильною групою можуть викликати ряд небажаних ефектів, особливо щодо шлунково-кишкового тракту. Кислотний залишок, як свідчать численні дослідження, завжди асоціюється із високою біологічною активністю нових молекул, [240], в тому числі і з аналгетичними властивостями [292, 293].

Метою цього розділу було провести скринінгові дослідження аналгетичної та протизапальної активності серед похідних арил(гетарил)карбонових кислот та їх структурних аналогів.

Оскільки сполуки, що досліджуються, є продуктами хімічної модифікації молекул нестероїдних протизапальних засобів, то для скринінгу їх базових ефектів – аналгетичного та протизапального – було обрано модель карагенінового набряку задньої кінцівки щура. Досліджено антифлогістичну дію та гіпералгію ушкодженої кінцівки, методики виконання скринінгових тестів описані в розділі 2. В якості референс-препаратів було обрано «золотий стандарт» – диклофенак натрію, а також хімічно близький аналог з класу оксикамів - лорноксикам. Всі препарати та сполуки досліджували в скринінговій дозі 20 мг/кг в/оч.

3.1 Оцінка знеболюючої та протизапальної активності 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин карбонової кислоти та її натрієвої солі

Результати дослідження аналгетичної та протизапальної активностей 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин карбонової кислоти та її натрієвої солі (сполуки NI-73 та NI-74, відповідно), представлені в таблицях 3.1 та 3.2.

Таблиця 3.1

Аналгезуюча активність 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин карбонової кислоти та її натрієвої солі в порівнянні з диклофенаком та лорноксикамом
($M \pm m, n = 5$)

Сполука, лабораторний шифр	R	ПБЧ на ушкодженій кінцівці, (г/мм ²)	ПБЧ на неушкодженій кінцівці, (г/мм ²)	Δ ПБЧ	АА, (%)
NI-73	H	294,0 ± 32,3	208,0 ± 17,7	86,0 ± 18,6 ¹	73,0
NI-74	Na	350,0 ± 15,8	306,0 ± 19,6	44,0 ± 8,12 ^{1,3}	86,2
Диклофенак	–	738,0 ± 18,3	679,0 ± 25,4	59,0 ± 9,27 ¹	81,4
Лорноксикам	–	441,0 ± 25,6	346,0 ± 23,4	95,0 ± 4,47 ^{1,2}	70,1
Контроль	–	593,0 ± 56,3	275,0 ± 32,1	318,0 ± 34,9	0

Примітки:

- ¹ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно контролю;
- ² - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно диклофенаку;
- ³ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно лорноксикаму.

Таблиця 3.2

Протизапальна активність 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин карбонової кислоти та її натрієвої солі в порівнянні з референс-препаратами ($M \pm m$, $n = 5$)

Сполука, лабораторний шифр	R	Об'єм ушкодженої кінцівки, (мм ³)	Об'єм неушкодженої кінцівки, (мм ³)	Приріст об'єму	АЕА (%)
NI-73	H	568,6 ± 16,5	268,7 ± 7,59	299,9 ± 20,1 ^{1,2,3}	27,5
NI-74	Na	516,3 ± 15,8	304,9 ± 14,0	211,4 ± 16,5 ^{1,2,3}	48,9
Диклофенак	–	397,6 ± 11,9	306,6 ± 9,36	91,05 ± 5,52 ¹	78,0
Лорноксикам	–	360,5 ± 26,4	263,9 ± 19,8	96,58 ± 7,62 ¹	76,7
Контроль	–	768,7 ± 27,3	354,9 ± 11,6	413,7 ± 32,2	0

Примітки:

- ¹ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно контролю;
- ² - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно диклофенаку;
- ³ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно лорноксикаму.

Отримані дані продемонстрували наявність виразної знеболюючої активності обох похідних, які у скринінговій дозі перевершували лорноксикам та практично співставлялись з диклофенаком. Проте за антифлогогенною активністю ці сполуки не сягали рівня референтних препаратів, взятих в аналогічних дозах.

3.2 Оцінка знеболюючої та протизапальної активності N-піридил-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів

Амінопіридини широко використовуються у фармацевтичній промисловості як проміжні продукти синтезу численних сучасних препаратів різних фармакологічних груп, у тому числі аналгетиків [174, 228].

Піридин-2-амід, добре відомий як лікарський засіб піроксикам, є першим комерційно успішним нестероїдним протизапальним засобом з вираженим знеболюючим ефектом в групі оксикамів. Пізніше з'явилися його більш ефективні аналоги теноксикам і лорноксикам.

Близькі структурні аналоги піроксикаму – N-(піридил)-4-гідрокси-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміди стали логічним продовженням цього перспективного напрямку. Вони відрізняються від піроксикаму взаємним розташуванням сульфо- та аміногруп у бензотіазиновому циклі.

Результати дослідження аналгетичної та протизапальної активності цих сполук представлені в табл. 3.3 та табл. 3.4.

Таблиця 3.3

Аналгезуюча активність N-піридил-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів та референтних препаратів (M ± m, n = 5)

Сполука, лабораторний шифр	ПБЧ на ушкодженій кінцівці, (г/мм ²)	ПБЧ на неушкодженій кінцівці, (г/мм ²)	Δ ПБЧ	АА, (%)
NI-88	358,0 ± 25,5	216,0 ± 15,6	142,0 ± 14,0 ¹	55,3
NI-83	449,0 ± 20,5	291,0 ± 11,6	158,0 ± 4,6 ^{1,2}	50,3
NI-85	350,0 ± 26,1	281,0 ± 27,4	69,0 ± 6,4 ^{1,2}	78,3
NI-86	346,0 ± 27,0	282,0 ± 14,9	64,0 ± 4,9 ¹	79,9
NI-87	362,0 ± 33,2	341,0 ± 35,3	21,0 ± 4,0 ^{1,2}	93,4
NI-82	390,0 ± 34,9	353,0 ± 29,9	37,0 ± 4,3 ^{1,2}	88,4
NI-84	419,0 ± 38,3	206,0 ± 12,6	213,0 ± 29,9	33,0
NI-81	412,0 ± 30,9	172,0 ± 16,0	240,0 ± 15,7 ¹	24,5
Диклофенак	738,0 ± 18,3	679,0 ± 25,4	59,0 ± 9,27 ¹	81,4
Лорноксикам	441,0 ± 33,1	346,0 ± 30,2	95,0 ± 12,7 ¹	70,1
Контроль	593,0 ± 21,1	275,0 ± 32,1	318,0 ± 18,6 ¹	0

Примітки:

- ¹ - статистично вірогідні відмінності (p < 0,05) відносно неушкодженої кінцівки;
- ² - статистично вірогідні відмінності (p < 0,05) відносно лорноксикама;

Протизапальна активність N-піридил-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів, та референтних препаратів (M ± m, n = 5)

Сполука, лабораторний шифр	Об'єм ушкодженої кінцівки, (мм ³)	Об'єм неушкодженої кінцівки, (мм ³)	Приріст об'єму	АЕА (%)
NI-88	469,1 ± 33,6	180,7 ± 65,5	288,4 ± 22,0 ¹	30,3
NI-83	349,4 ± 33,5	197,9 ± 43,2	151,4 ± 16,9 ^{1,2}	63,4
NI-85	330,5 ± 27,3	159,7 ± 8,31	170,8 ± 6,5 ¹	58,7
NI-86	493,5 ± 45,0	218,7 ± 29,4	274,7 ± 21,6 ^{1,2}	33,6
NI-87	288,3 ± 53,5	212,5 ± 23,9	75,8 ± 7,9 ^{1,2}	81,7
NI-82	243,4 ± 37,5	148,4 ± 28,2	94,9 ± 4,8 ^{1,2}	77,1
NI-84	473,7 ± 35,3	209,7 ± 41,0	263,9 ± 14,8	36,2
NI-81	427,9 ± 44,3	129,5 ± 36,1	298,4 ± 15,0	27,9
Диклофенак	397,6 ± 11,9	306,6 ± 9,36	91,05 ± 5,52 ¹	78,0
Лорноксикам	441,0 ± 33,1	346,0 ± 30,2	95,0 ± 12,7 ¹	70,1
Контроль	568,7 ± 27,3	154,9 ± 11,4	413,9 ± 32,2 ¹	0

Примітки:

- ¹ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно неушкодженої кінцівки;
- ² - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно лорноксикаму

Отримані дані свідчать, що трансформація молекули карбоксамідів у вигляді N-піридил-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів виявилась дуже цікавою та продуктивною. Усі піридиламіди, в тому числі і вихідний імідазолід (вихідна молекула, сполука NI-88), виявляє знеболюючі та протизапальні властивості від середнього до високого рівня. Заслуговує на увагу той факт, що мета-ізомер (сполука NI-82) в ряді незаміщених піридиламідів (сполуки NI-83, NI-84 та NI-81) виявляє потужні знеболюючі та антифлогенні властивості. Однак модифікація N-(піридин-3-іл)-амід (сполука

NI-82) у моносолюват N,N-диметилформаміду (сполука NI-84) викликає значне зниження в біологічній активності, ймовірно, через значну конформаційну перебудову молекули через сольватацію. Метильна група помітно посилює знеболюючий ефект незалежно від положення в піридиновому ядрі (аміди, NI-85, NI-86, NI-87). Крім того, присутність метильного замісника по-різному відбивається на протизапальних властивостях: у положенні до кільцевого азоту (амід NI-84) він практично не діє, в положенні 4 (амід NI-86) він зменшує ці властивості вдвічі, тоді як в положенні 5 (амід NI-87) – навпаки, збільшується приблизно на 20 % порівняно з незаміщеним N-(піридин-2-іл)-амідом NI-83.

Можна відмітити, що сполуки NI-82, NI-85, NI-86 та NI-87 перевершують лорноксикам за аналгетичною активністю, тоді як за антифлогогенною активністю лише дві сполуки - NI-82 та NI-87 перевершували найбільш активний референтний засіб з групи оксикамів – лорноксикам. Жоден з них не був більш активним порівняно з диклофенаком.

3.3 Оцінка знеболюючої та протизапальної активності похідних N-гетарил(арил)алкіл-4метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду

В наступній серії дослідів було вивчено фармакологічну активність ряду N-гетарилалкілзаміщених амідів 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоної кислоти. Водночас було досліджено і їх структурно близькі аналоги, коли була проведена фактична заміна гетероциклу в амідному фрагменті на феніл або заміщений феніл. Результати дослідження аналгетичної дії представлені в табл. 3.5.

Встановлено, що всі без винятку зразки показали знеболюючий ефект, при чому деякі з них за ступенем його виразності співставляються із лорноксикамом, взятим в аналогічній дозі (див. табл. 3.5). Цікаво, що в групі з N-піридинілметиламідів найпотужнішим аналгетиком знову був мета-ізомер NI-26. Фуран-2-ілметил похідне NI-29 та його аналог тіофену NI-28 біологічно

дуже схожі, тоді як метилювання фурану ядра або його гідрування (аміди NI-29 і NI-31 відповідно) призводять до зниження знеболюючих властивостей.

Таблиця 3.5

Аналгезуюча активність гетарилалкіламідів (сполуки NI-25-33), бензиламідів (сполуки NI-1-11) - похідних 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти, та референтних препаратів ($M \pm m, n = 5$)

Сполука, лабораторний шифр	ПБЧ на ушкодженій кінцівці, (г/мм ²)	ПБЧ на неушкодженій кінцівці, (г/мм ²)	Δ ПБЧ	АА, (%)
1	2	3	4	5
NI-25	432,0 ± 12,5	192,0 ± 8,5	240,0 ± 17,3 ^{1,2,3}	+ 24,5
NI-26	470,0 ± 50,9	345,0 ± 41,7	125,0 ± 36,1 ^{1,2,3}	+ 60,7
NI-27	522,0 ± 53,4	249,0 ± 36,9	273,0 ± 65,4 ^{1,2,3}	+ 14,2
NI-29	436,0 ± 36,6	202,0 ± 12,5	243,0 ± 55,1 ^{1,2,3}	+ 26,4
NI-28	440,0 ± 35,8	306,0 ± 27,9	134,0 ± 30,5 ^{1,2}	+ 57,9
NI-31	460,0 ± 27,4	219,0 ± 16,6	241,0 ± 43,3 ^{1,2}	+ 24,2
NI-30	404,0 ± 37,1	288,0 ± 43,1	116,0 ± 20,0 ^{1,2}	+ 83,5
NI-32	446,0 ± 49,9	306,0 ± 42,3	140,0 ± 45,4 ^{1,2}	+ 56,0
NI-33	451,0 ± 21,1	344,0 ± 23,7	107,0 ± 32,2 ^{1,2}	+ 66,4
NI-1	541,0 ± 11,9	339,0 ± 26,8	202,0 ± 48,2 ^{1,2,3}	+ 36,5
NI-2	560,0 ± 23,5	274,0 ± 26,6	286,0 ± 40,4 ^{1,2,3}	+ 10,1
NI-3	530,0 ± 40,2	224,0 ± 32,6	306,0 ± 36,1 ^{1,2,3}	+ 3,8
NI-4	499,0 ± 11,3	195,0 ± 7,36	304,0 ± 13,2	+ 4,4
NI-5	468,0 ± 29,6	380,0 ± 20,0	106,0 ± 28,8	+ 66,7
NI-6	431,0 ± 19,4	183,0 ± 21,9	248,0 ± 11,0 ^{1,2,3}	+ 40,8
NI-7	446,0 ± 24,0	352,0 ± 25,7	94,0 ± 18,9 ¹	+ 70,4
NI-8	493,0 ± 8,56	366,0 ± 12,4	127,0 ± 7,64 ^{1,2,3}	+ 60,1
NI-9	621,0 ± 13,9	590,0 ± 29,7	31,0 ± 15,3 ^{1,3}	+ 90,3

Продовження таблиці 3.5

1	2	3	4	5
NI-10	494,0 ± 15,6	259,0 ± 14,5	235,0 ± 49,2 ^{1,2,3}	+ 26,1
NI-11	415,0 ± 21,4	212,0 ± 9,49	203,0 ± 40,4 ^{1,2,3}	+ 36,2
Лорноксикам	441,0 ± 33,1	346,0 ± 30,2	95,0 ± 12,7 ¹	+ 70,1
Диклофенак	538,0 ± 23,6	479,0 ± 32,8	59,0 ± 15,3 ¹	+81,4
Контроль	593,0 ± 62,7	257,0 ± 41,4	318,0 ± 58,2 ¹	0

Примітки:

- ¹ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно неушкодженої кінцівки;
- ² - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно диклофенаку;
- ³ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно лорноксикаму.

Дослідження протизапальної активності N-гетарилалкиламідів (сполуки NI-25-33) принесло нові цікаві дані, які стосуються загальної картини нашого дослідження. Біль і запалення часто супроводжують один одного, тому великою популярністю в сучасній медицині користуються препарати, здатні ефективно усувати обидві ці реакції одночасно. Встановлено, що N-піридинілметиламіди NI-25-27 продемонстрували протизапальну дію від низького до помірного рівня (табл. 3.6), трохи більшу фармакологічну активність (як протизапальну, так і знеболюючу) проявив N-(тетрагідрофуран-2-ілметил)-амід (сполука NI-31). Те ж саме можна сказати і про гетарилпропіламіди (сполуки NI-32 і NI-33), хоча вони показали дуже хороші знеболюючі властивості. Фуран-2-ілметиламіди NI-29 та NI-28 за ступенем антифлогогенної активності співставлялись із лорноксикамом і диклофенаком, але значно поступались їм за знеболюючою активністю. З усіх N-гетарилалкилзаміщених похідних, представлених в цій таблиці, лише N-тіофен-2-ілметиламід (сполука NI-30) показав одночасно високу знеболюючу та протизапальну активність відтак його можна розглядати як кандидата на більш детальне дослідження.

Протизапальна активність гетарилалкіламідів (сполуки NI-25-33), бензиламідів (сполуки NI-1-11) похідних 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти, та референтних препаратів ($M \pm m$, $n = 5$)

Сполука, лабораторний шифр	Об'єм ушкодженої кінцівки, (мм ³)	Об'єм неушкодженої кінцівки, (мм ³)	Приріст об'єму	АЕА (%)
1	2	3	4	5
NI-25	641,7 ± 72,9	321,5 ± 87,2	320,1 ± 69,3 ^{1,2,3}	+ 22,6
NI-26	589,4 ± 17,3	339,2 ± 16,5	250,1 ± 13,3 ^{1,2,3}	+ 39,6
NI-27	594,9 ± 24,6	291,8 ± 49,6	303,1 ± 30,7 ^{1,2,3}	+ 26,7
NI-29	416,0 ± 50,5	330,3 ± 59,8	85,7 ± 6,0 ¹	+ 79,3
NI-28	506,4 ± 62,4	397,6 ± 64,6	108,8 ± 6,3 ¹	+ 73,7
NI-31	473,7 ± 50,2	225,6 ± 54,2	248,0 ± 49,9 ^{1,2,3}	+ 40,1
NI-30	431,3 ± 36,7	379,4 ± 44,9	51,9 ± 10,5 ^{1,2,3}	+ 87,5
NI-32	603,0 ± 68,6	425,3 ± 41,1	177,7 ± 37,5 ^{1,2,3}	+ 57,0
NI-33	561,7 ± 11,6	274,1 ± 21,0	287,7 ± 28,3 ^{1,2,3}	+ 30,5
NI-1	537,1 ± 32,5	281,7 ± 16,3	255,4 ± 43,4 ^{1,2,3}	+ 38,3
NI-2	580,8 ± 62,7	297,6 ± 10,4	283,3 ± 53,2 ^{1,2,3}	+ 31,5
NI-3	669,8 ± 30,2	292,3 ± 27,7	377,6 ± 28,1	+ 8,7
NI-4	794,2 ± 37,1	393,8 ± 35,7	400,7 ± 41,9	+ 4,2
NI-5	453,4 ± 51,3	279,1 ± 7,04	174,3 ± 50,7 ^{1,2,3}	+ 57,9
NI-6	696,8 ± 28,6	314,4 ± 8,31	382,4 ± 31,6	+ 7,6
NI-7	600,9 ± 13,6	326,2 ± 24,8	74,8 ± 27,0 ^{1,2,3}	+ 81,6
NI-8	421,3 ± 18,5	271,1 ± 22,4	150,3 ± 26,7 ^{1,2,3}	+ 63,7
NI-9	369,5 ± 65,4	296,6 ± 42,8	72,8 ± 24,7 ^{1,2,3}	+ 82,4
NI-10	779,5 ± 50,2	369,7 ± 13,7	409,8 ± 54,5	+ 0,9
NI-11	377,5 ± 39,2	306,6 ± 50,5	70,99 ± 16,3	+ 82,8
Лорноксикам	360,5 ± 82,5	263,9 ± 60,9	96,6 ± 22,7 ¹	+ 76,7
Диклофенак	397,6 ± 22,4	306,6 ± 17,6	91,0 ± 16,0 ¹	+ 78,0

Продовження таблиці 3.6

1	2	3	4	5
Контроль	768,7 ± 61,0	354,9 ± 22,9	413,7 ± 72,1 ¹	0

Примітки:

1. ¹ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно неушкодженої кінцівки;
2. ² - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно диклофенаку;
3. ³ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно лорноксикаму.

Заміна на N-бензил-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміди (сполуки NI-1- NI11) дійсно виявляється доцільною з точки зору біоізостеричності, оскільки окремі представники одержаних таким шляхом сполук виявили спроможність пригнічувати як біль, так і запалення, причому ступінь виразності цих ефектів був співставним або переважав препарати порівняння. У даному випадку основна структура цієї серії – незаміщений N-бензиламід NI-1 – показала помірні біологічні ефекти. Галогенування ароматичного кільця (аміди NI-2 - NI-4) супроводжувалося майже повною втратою активності, отже, цю модифікацію слід вважати вкрай невдалою.

Метилування бензильного фрагмента в орто- і пара-положеннях майже не впливає на протизапальні властивості, але мета-метил замісник дезактивував молекулу. У той же час, після введення метильних груп знеболююча дія збільшується приблизно вдвічі порівняно з основою N-бензиламіду (сполука NI-1). Однак, винятком тут є мета-ізомер – його знеболювальна активність залишається на початковому рівні.

Метоксибензиламіди продемонстрували подібні структурно-біологічні закономірності: висока і статистично значуща активність виявлена у орто- і парамозаміщених похідних NI-8 та NI-9, поряд із відсутністю активності у зразку NI-10 з метаметоксигрупою. Цікаво, що заміна метоксигруп діоксоловим циклом, ателованим з бензольним ядром і утворений на основі атомів кисню в однакових положеннях 3 і 4 (модифікація NI-10 на NI-11) був

дуже корисним. Таким чином, протизапальні властивості N-(1,3-бензодіоксол-5-ілметил)-аміду NI-11 досягають максимального рівня серед усіх сполук із групи N-бензиламідів (NI-1 - NI-11). Знеболюючий ефект також посилюється, хоча і досить незначно.

Загалом, згідно з результатами наших випробувань з цього класу хімічних сполук лише дві речовини – N-тіофен-2-ілметил- і N-4-метоксибензил-аміди 4-метил-2,2-діоксо-1H-2,6,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти представляють реальний інтерес для подальших досліджень як потенційні аналгетики з потужною протизапальною дією.

3.4 Оцінка знеболюючої та протизапальної активності N-(1-арилетил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2,6,1-бензотіазин-3-карбоксамідів та їх оптичних ізомерів

Відомо, що хіральна ізомерія є важливою для реалізації як фармакологічної активності, так і токсичності біологічно активних сполук. Різні властивості право- та лівообертальних ізомерів сполуки давно привертають увагу дослідників різних спеціальностей, а особливо – фармакологів, фармацевтів та лікарів. При дослідженні сполук, які містять асиметричні атоми карбону, дослідники виявляють, що лише один енантіомер виявляє біологічну активність, тоді як його дзеркальний ізомер – навпаки, проявляє низьку активність або взагалі її не має [149, 156, 207, 272]. Не виключено, ізомери можуть проявляти різні, а інколи і протилежні властивості [181], або бути небезпечно токсичним [321].

Енантіомери інколи демонструють повністю ідентичні клінічні властивості, і тоді необхідність їх окремого створення практично відсутня. Крім того, при розробці препаратів на основі енантіомерів слід пам'ятати, що в живому організмі вони легко метаболізуються один в одного, тому розділ рацематів не завжди дозволяє отримувати сполуки з індивідуальними фармакологічними властивостями [Kubinyi, H. (2006)]. Тому інколи рацемат є

більш активним, ніж кожний з енантіомерів [114], що зазвичай трактується як прояв синергізма ефектів, притаманних кожному із дзеркальних ізомерів окремо [241].

Враховуючи вищезазначене, досить цікавим було оцінити прояви фармакологічних ефектів енантіомерів та рацематів серед низки N-(1-арилетил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів.

Результати дозволили встановити тісний зв'язок між просторовою будовою цих сполук та їх біологічною активністю (табл. 3.7, табл. 3.8).

Таблиця 3.7

Аналгезуюча активність N-(1-арилетил)-амідів 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти, та референтних препаратів

($M \pm m$, $n = 5$)

Сполука, лабораторний шифр	ПБЧ на ушкодженій кінцівці, (г/мм ²)	ПБЧ на неушкодженій кінцівці, (г/мм ²)	Δ ПБЧ	АА, (%)
1	2	3	4	5
NI-12	514,0 ± 33,2	265,0 ± 29,0	249,0 ± 22,1 ^{1,2,3}	21,7
NI-16	450,0 ± 29,3	236,0 ± 15,6	214,0 ± 19,0 ^{1,2,3}	32,7
NI-13	369,0 ± 15,0	335,2 ± 24,1	33,8 ± 5,2 ^{1,2,3}	89,4
NI-17	416,0 ± 37,9	382,0 ± 32,2	34,0 ± 5,5 ^{1,2}	89,3
NI-14	469,0 ± 20,1	228,0 ± 10,1	241,0 ± 42,2 ^{1,2,3}	24,2
NI-18	408,0 ± 10,3	333,0 ± 18,5	75,0 ± 7,3 ^{1,2,3}	76,4
NI-15	501,0 ± 54,4	282,0 ± 15,4	219,0 ± 29,8 ^{1,2}	31,1
NI-19	356,0 ± 15,2	186,0 ± 12,6	170,0 ± 33,4 ^{1,2}	46,5

Продовження таблиці 3.7

1	2	3	4	5
Лорноксикам	441,0 ± 33,1	346,0 ± 30,2	95,0 ± 12,7 ¹	70,1
Диклофенак	538,0 ± 23,6	479,0 ± 32,8	59,0 ± 15,3 ¹	81,4
Контроль	593,0 ± 62,7	257,0 ± 41,4	318,0 ± 58,2 ¹	0

Примітки:

- ¹ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно неушкодженої кінцівки;
- ² - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно диклофенаку;
- ³ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно лорноксикаму.

Таблиця 3.8

Протизапальна активність N-(1-арилетил)-амідів
4-метил-2,2-діоксо-1Н-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти, та
референтних препаратів ($M \pm m, n = 5$)

Сполука, лабораторний шифр	Об'єм ушкодженої кінцівки, (мм ³)	Об'єм неушкодженої кінцівки, (мм ³)	Приріст об'єму	АЕА (%)
NI-12	607,8 ± 15,5	500,9 ± 17,6	106,9 ± 7,7 ^{1,2,3}	74,2
NI-16	607,8 ± 15,5	311,6 ± 25,1	348,7 ± 22,8 ^{1,2,3}	15,7
NI-13	607,8 ± 15,5	478,9 ± 87,3	41,9 ± 3,6 ^{1,2,3}	89,9
NI-17	636,2 ± 74,9	552,0 ± 53,8	84,2 ± 6,9 ^{1,2,3}	79,7
NI-14	648,6 ± 42,1	464,2 ± 13,9	184,4 ± 26,3 ^{1,2}	55,4
NI-18	535,7 ± 64,3	374,5 ± 31,8	161,1 ± 19,3 ^{1,2,3}	61,1
NI-15	687,3 ± 94,0	360,5 ± 32,7	326,8 ± 59,4 ^{1,2,3}	21,0
NI-19	743,8 ± 98,6	379,1 ± 91,6	364,6 ± 87,5 ^{1,2,3}	11,9
Лорноксикам	360,5 ± 82,5	263,9 ± 60,9	96,6 ± 22,7 ¹	76,7
Диклофенак	397,6 ± 22,4	306,6 ± 17,6	91,0 ± 16,0 ¹	78,0
Контроль	593,0 ± 62,7	257,0 ± 41,4	318,0 ± 58,2 ¹	0

Примітки:

- ¹ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно неушкодженої кінцівки;
- ² - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно диклофенаку;
- ³ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно лорноксикаму.

Виявлено, що енантіомери з хіральними центрами, що мають (S)-конфігурацію (сполуки NI-12, NI-16), показали надзвичайно слабе пригнічення больової реакції, тоді як їхні дзеркальні ізомери, що мають (R)-конфігурацію (сполуки NI-13 та NI-17) – були дуже потужними аналгетиками, які за виразністю знеболюючої дії перевершуючи лорноксикам і диклофенак за аналогічних умов експерименту. Попарне порівняння енантіомерів показало, що стереоспецифічність дії продемонстрували 4-метокси похідні (сполуки NI-16 та NI-17), тоді як їх незаміщені аналоги (сполуки NI-12 і NI-13) демонструють антиексудативний ефект однакової сили незалежно від конфігурації хірального центру (див. табл. 3.8).

Неочікувані результати показали результати дослідження фармакологічних ефектів справжніх рацематів NI-14 та NI-18 та рацемічних сумішей NI-15 та NI-19. В той же час, нічого незвичайного не спостерігалось в поведінці рацемічного N-(1-фенілетил)-аміду (сполука NI-14). Як і очікували, він виявив надзвичайно слабку знеболюючу активність, оскільки складається з половини «неправильного» (S)-енантіомеру NI-12. Не дивно, що рацемічна суміш NI-15 показала приблизно той самий результат (див. табл. 3.7). З цієї ж причини слабкий знеболюючий ефект рацемічної суміші NI-19 також був досить передбачуваним. Однак лише рацемічний N-[1-(4-метоксифеніл)етил]-амід (сполука NI-18) чітко виділявся на тлі інших зразків своєю високою активністю. Можливо, цей факт можна буде пояснити після більш детального дослідження просторової структури як самого рацемату (сполуки NI-18), так і його аналогів.

3.5. Дослідження гострої токсичності найбільш активних похідних N-R-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів. Визначення сполуки-лідера

Як продемонстрували результати скринінгових досліджень аналгетичної та протизапальної дії, серед сполук, які досліджували, найбільш виразну фармакологічну активність виявили наступні сполуки:

Сполука NI-7 - N-(4-метилбензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамід

Сполука NI-9 - N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамід

Сполука NI-82 - N-(піридин-3-іл)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамід

Сполука NI-87 - N-(5-метилпіридин-2-іл)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамід

Сполука NI-30 - N-(тіофен-2-ілметил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамід

Ці речовини співставлялись або перевершували препарати порівняння лорноксикам та диклофенак за ступенем виразності антиноцицепції та протизапальної активності.

Подальшим кроком було дослідити гостру токсичність цих речовин з метою вибору найбільш безпечної сполуки для подальших поглиблених досліджень. Досліди виконані на 141 білій нелінійній миші обох статей масою 23-25 г віварію Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова. Під час експериментів тварин утримували на звичайному раціоні з вільним доступом до води та їжі.

Параметри гострої токсичності визначали за експрес-методом Т. В. Пастушенко (1985). Піддослідні тварини були поділені на групи по 3 тварини в кожній. Досліджувані сполуки розчиняли в Твин-80 та дистильованій воді, вводили в/оч. Спостереження за тваринами проводили протягом 14 днів. Оцінювали виживаність тварин, а також особливості їх

поведінки, стан шкірних покривів, споживання їжі та води, стан ШКТ, ЦНС та ін.

Результати представлені в таблиці 3.9.

Таблиця 3.9

Гостра токсичність досліджуваних сполук при внутрішньоочеревинному введенні у мишей

Сполука, шифр	Доза, мг/кг	К-сть тварин	Летальність	LD ₅₀ , мг/кг, її довірчий інтервал
NI-7	100,0	3	1	218(146 ÷ 290)
	126,0	3	1	
	258,0	3	1	
	200,0	3	1	
	250,0	3	2	
	282,0	3	3	
	316,0	3	3	
NI-9	500,0	3	0	682 (620 ÷ 743)
	562,0	3	1	
	630,0	3	1	
	668,0	3	1	
	708,0	3	2	
	750,0	3	3	
NI-87	398,0	3	1	465 (385 ÷ 546)
	447,0	3	1	
	500,0	3	2	
	562,0	3	2	
	630,0	3	2	
NI-82	100,0	3	1	187 (115 ÷ 260)
	126,0	3	1	
	158,0	3	1	
	200,0	3	2	
	250,0	3	2	
	282,0	3	3	
	316,0	3	3	
NI-30	316,0	3	1	343 (278 ÷ 407)
	355,0	3	2	
	398,0	3	2	
	447,0	3	3	
	500,0	3	3	

Продовження таблиці 3.9.

Диклофенак	250,0	3	0	330 (272 ÷ 387)
	282,0	3	1	
	316,0	3	1	
	355,0	3	2	
	398,0	3	3	
Мелоксикам	447,0	3	0	586 (484 ÷ 688)
	500,0	3	1	
	562,0	3	1	
	630,0	3	2	
	668,0	3	2	
Лорноксикам	500,0	3	0	736 (669 ÷ 804)
	562,0	3	0	
	630,0	3	0	
	668,0	3	1	
	708,0	3	2	
	750,0	3	2	
	794,0	3	3	

Отримані результати показали, що серед досліджуваних сполук найменший показник гострої токсичності виявила речовина під лабораторним шифром NI-9 (*N*-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамід). Розрахунок його середньосмертельної дози для мишей після одноразового в/оч введення становив 682 (620 ÷ 743) мг/кг. Ознаки гострого передозування всіх препаратів, які було досліджено, включали поверхнєве дихання, судоми, зменшення сечовиділення, на розтині загиблих тварин виявлені візуальні ознаки ушкодження шлунка. Смерть тварин переважно виникала в перші 3 дні після введення сполуки.

Слід відмітити, що показник LD₅₀ сполуки NI-9 виявився меншим, ніж у референс-препаратів диклофенаку та мелоксикаму, і незначно поступався лорноксикаму, LD₅₀ якого становив 736 (669÷804) мг/кг.

Лікування гострих, а особливо, хронічних больових синдромів інколи потребують тривалого застосування, і найбільш часто препарати групи НПЗЗ призначаються всередину у вигляді таблеток або капсул. Тому важливим є

визначення токсичного потенціалу нових кандидатів саме при їх пероральному введенні.

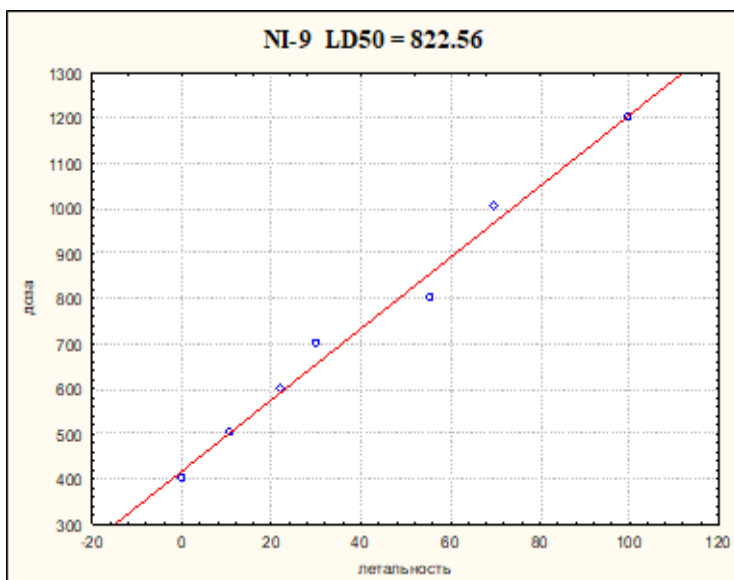
Результати дослідження сполуки-лідера (NI-9), а також диклофенака та мелоксикама за їх одноразового в/шл введення щурам наведені в таблиці 3.10.

Таблиця 3.10

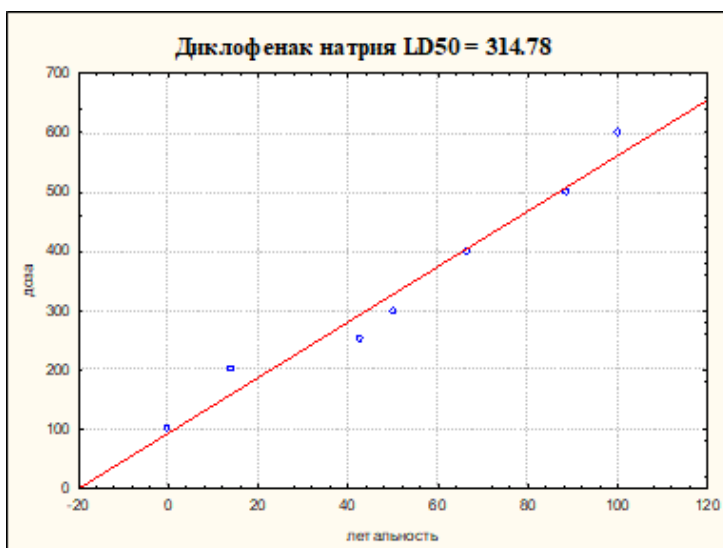
Гостра токсичність досліджуваних сполук при внутрішньошлунковому введенні у щурів (n = 7-10)

Доза, мг/кг	Сполука NI-9		Диклофенак		Мелоксикам	
	К-ть тварин в групі	К-ть летальних випадків	К-ть тварин в групі	К-ть летальних випадків	К-ть тварин в групі	К-ть летальних випадків
200	-	-	7	1	-	-
250	-	-	7	3	-	-
300	-	-	10	5	-	-
400	-	-	9	6	-	-
500	9	1	9	8	9	3
600	9	2	-	-	10	4
700	10	3	-	-	8	4
800	9	5	-	-	7	5
1000	10	7	-	-	10	9
Розраховані значення	LD ₁₆ = 513,56 LD₅₀ = 822,57 LD ₈₄ = 1131,58 LD ₁₀₀ = 1286,08		LD ₁₆ = 161,79 LD₅₀ = 314,78 LD ₈₄ = 467,78 LD ₁₀₀ = 544,27		LD ₁₆ = 410,83 LD₅₀ = 667,54 LD ₈₄ = 924,25 LD ₁₀₀ = 1052,61	

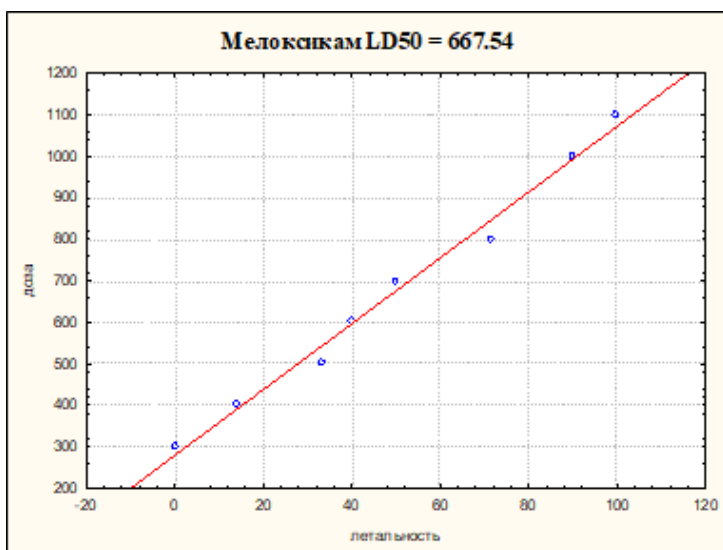
Згідно отриманих даних, сполука NI-9 за її одноразового в/шл введення щурам показала менший показник летальності, в порівнянні з еталонним представником групи НПЗЗ – диклофенаком, а також із найбільш близькою за хімічною структурою речовиною – мелоксикамом. Її LD₅₀ становила 822,57 мг/кг проти 314,78 та 667,54 мг/кг у референтних препаратів (рис. 3.1).



А



Б



В

Рис. 3.1 Гостра токсичність сполуки NI-9 (А), диклофенаку (Б) та мелоксикаму (В) за їх одноразового в/шл введення щурам.

Таким чином, можна вважати, що похідне карбоксамідів з лабораторним шифром сполука NI-9 представляє найбільший інтерес для подальших поглиблених досліджень в якості потенційного засобу із знеболючими та протизапальними властивостями.

3.6 *In silico* дослідження сполуки-лідера (N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду (сполуки NI-9)

Для передбачення можливого механізму фармакологічної дії сполуки-лідера здійснено молекулярний докінг цільового N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду у сайт зв'язування селективного інгібітора ЦОГ-2 – мелоксикаму. Вибір саме мелоксикаму як референс-ліганда обумовлений, в першу чергу, його структурною подібністю з досліджуваним бензотіазин-3-карбоксамідом (рис. 3.2). Окрім того, саме мелоксикам має власну кишеню зв'язування у верхній частині каналу ензиму ЦОГ-2, чим пояснюють його вищу спорідненість саме до ЦОГ-2, ніж до ЦОГ-1, у порівнянні з іншими оксикамами [Ху S, 2014] та на відміну від коксібів, які фіксується у боковій частині макромолекули [197, 304]

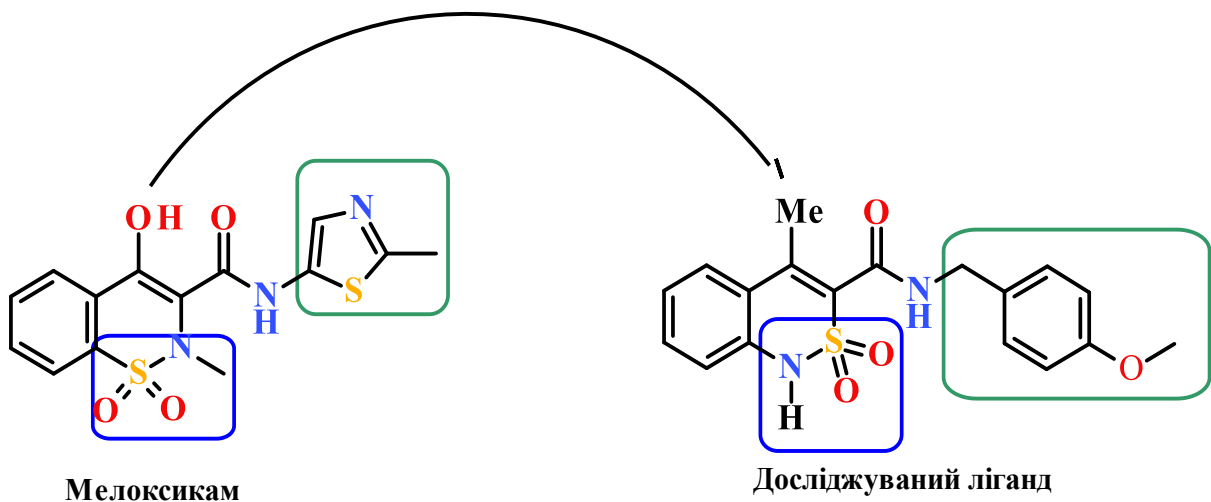


Рис. 3.2 Структурні відмінності мелоксикаму та досліджуваного карбоксаміду.

Для молекулярного докінгу було використано макромолекулу ензиму ЦОГ-2 кристалізовану у конформації з мелоксикамом [311]. Гомотетрамерна структура ензиму ЦОГ-2 складається з EGF-подібного домену, мембранозв'язуючого домену та каталітичного домену, кожна з чотирьох субодиниць якого містить сайт зв'язування мелоксикаму. Для визначення афінності досліджуваного ліганда було використано субодиницю А.

Особливостями розміщення мелоксикаму в активному сайті ЦОГ-2 вважається деяка його конформаційна гнучкість за рахунок водневих зв'язків із серином (SER530) та із скоординованою молекулою води в комплексі з аргініном та тирозином (ARG120/TYR-355) через атом нітрогену тіазинового циклу та атом кисню карбоксамідного фрагменту молекули мелоксикаму. Оскільки методологія гнучкого молекулярного докінгу передбачає видалення молекул води зі структури макромолекули при її підготовці до стикування, оцінити можливість утворення саме такого виду взаємодії в *in silico* експерименті не є можливим. Тому при оцінці конформаційного розміщення досліджуваного бензотіазин-3-карбоксаміду у кишені зв'язування ЦОГ-2, амінокислотні залишки аргініну (ARG120) та тирозину (TYR355) вважали залишками активного сайту. Магістральною амінокислотою, яка доведено визначає ключову відмінність гідрофобної фіксації мелоксикаму від інших оксикамів в активному сайті є амінокислота лейцин (LEU531), яка фіксує бензеновий цикл мелоксикаму.

Здатність використаного алгоритму та параметрів докінгу відтворювати експериментально встановлені дані щодо розміщення мелоксикаму в активному сайті наведено в табл. 3.11 та рис. 3.3, 3.4.

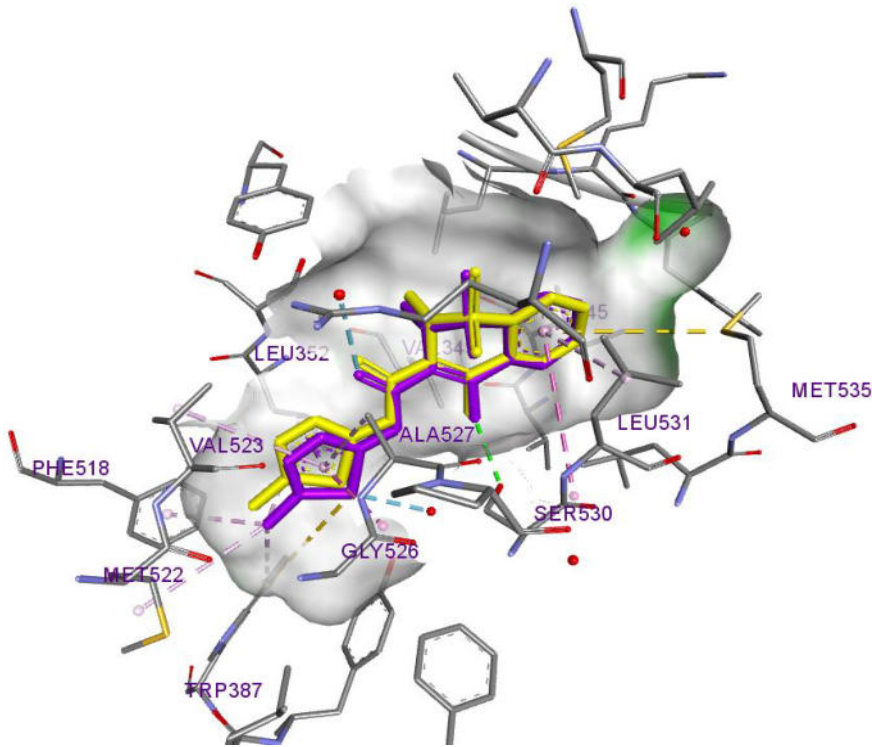


Рис. 3.3 3D візуалізація сумісного конформаційного розміщення нативного [311] та референс-мелоксікаму в активному сайті ЦОГ-2.

При референс-взаємодії чітко відтворюється конформаційне розміщення у просторі мелоксікаму відносно нативного положення (див. рис. 3.2), а також усі види взаємодій з амінокислотами активного сайту ЦОГ-2 (див. рис. 3.3).

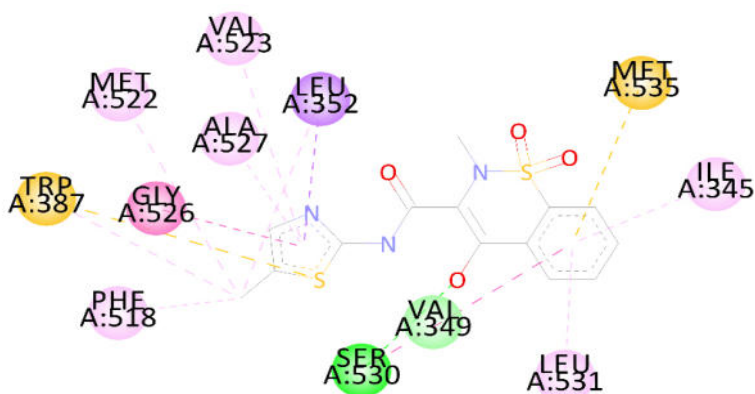


Рис. 3.4 2D візуалізація взаємодії референс-взаємодії мелоксікаму з амінокислотними залишками активного сайту ЦОГ-2.

Енергія зв'язування мелоксікаму склала -10,5 ккал/моль, що відповідає відомій високій афінності до ензиму ЦОГ-2.

Таблиця 3.11

Результати докінгу досліджуваного карбоксаміду та референс-ліганду в активному сайті інгібітора ЦОГ-2

Ліганд	Енергія зв'язування ккал/моль	Гідрофобні зв'язки	Водневі зв'язки	Інші взаємодії
Мелоксікам	- 10,5	GLY526, ALA527(2), SER530, LEU359, LEU352, MET522, VAL523, TRP387, PHE518, ILE345	SER 530	MET535, TRP387 (Pi-Sulfur)
Сполука NI-9	- 8,2	LEU352, GLY526, ALA527(3), ARG120(2), LEU531, VAL116 *, LEU359, VAL349 *	SER530(2), MET522	

Примітки:

- * - Позначено амінокислотні залишки, які в експерименті не взаємодіють з АКВА
- В дужках вказана кількість зв'язків

Оцінку результатів докінгу досліджуваного ліганду проводили за параметром енергії зв'язування (ккал/моль) щодо референс-ліганду, за видом та кількістю взаємодії з амінокислотними залишками активного сайту та за просторовим положенням в порожнині гідрофобної кишені.

За показником енергії зв'язування, що кількісно виражає ступінь афінитету, досліджуваний бензотіазин-3-карбоксамід дещо поступався нативному мелоксікаму: - 8,2 проти -10,5 ккал/моль, відповідно (див. табл. 3.11). Однак, значення енергії зв'язування є достатньо низьким, щоб прогнозувати високу спорідненість ліганду до сайту інгібітора ензиму ЦОГ-2.

При аналізі характеру та кількості взаємодій з амінокислотними залишками стає очевидною можливість утворення міцної конформації ліганд-ензим за рахунок одинадцяти гідروفобних взаємодій (рис. 3.5). Бензеновий цикл фіксується тетраедричною сіткою зв'язків з алкільними фрагментами валіну, лейцину та аргініну (VAL116, LEU359, ARG120); метильний радикал у четвертому положенні взаємодіє з алкільними фрагментами аргініну та аланіну (ARG120, ALA527), а також з ізопропільним залишком лейцину (LEU531) – фундаментальної амінокислоти для фіксації в активному мелоксикаму; кінцевий бензильний радикал фіксується двома парами бідентантних взаємодій з гліцином/аланіном (GLY526, ALA527) та двома кінцевими ізопропільними залишками лейцину/валіну (LEU352, VAL349).

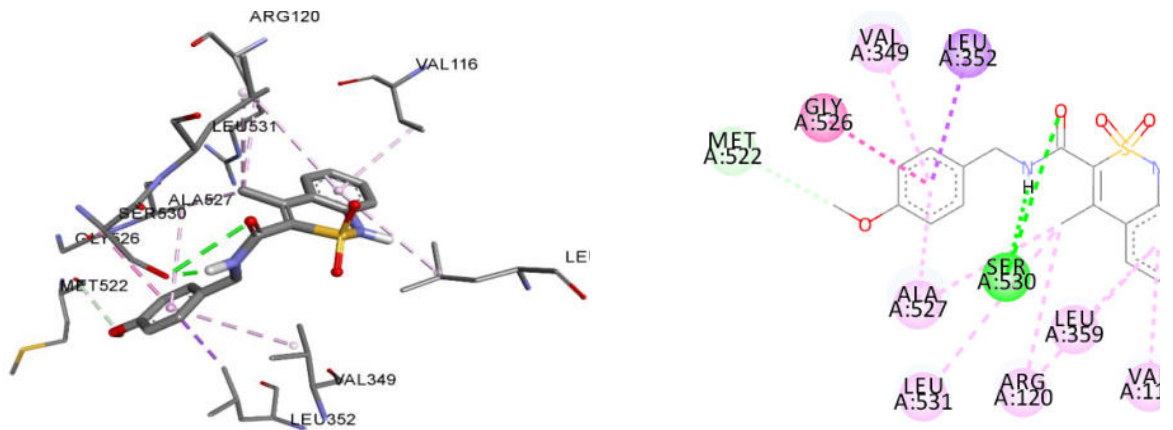


Рис. 3.5 3D та 2D візуалізація взаємодії досліджуваного ліганду з амінокислотними залишками активного сайту інгібітора ЦОГ-2.

Додаткова стабілізація конформації прогнозовано можлива за рахунок формування водневих зв'язків між метоксигрупою у 4 положенні бензильного фрагменту та карбоксильною групою метіоніну (MET522), а також гнучкого амідного фрагменту – з гідроксилом серину (SER530).

Слід відзначити відсутність будь-якої взаємодії між сульфамідною групою в структурі досліджуваного ліганду, однак зазначений фрагмент і у складі мелоксикаму не взаємодіє з амінокислотними залишками активного сайту та не бере участь у просторовому розміщенні. Також не можливе

утворення Pi-Sulfur взаємодії з метионіном та триптофаном (MET535, TRP387), яка в мелоксикамі утворюється за рахунок сульфуру у кінцевому тiazольному циклі.

Деталізація сумісної конформації досліджуваного бензотіазинкарбоксаміду та нативного мелоксикаму (рис. 3.6) демонструє можливість повного та глибокого занурення досліджуваного ліганду у кишеню активного сайту. Ідентичність оптимального положення у просторі для обох лігандів візуалізується накладанням усіх основних фрагментів молекул.

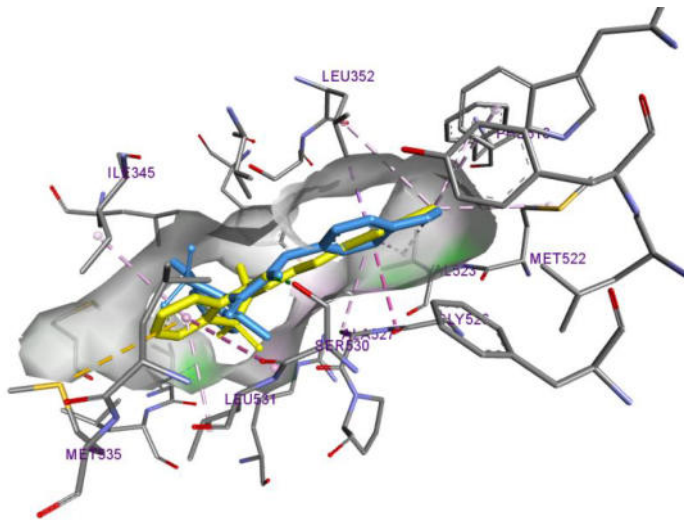


Рис. 3.6 3D візуалізація сумісного конформаційного розміщення експериментального мелоксикаму [312] та досліджуваного ліганду в активному сайті ЦОГ-2.

Висновок до розділу 3.

В розділі наведено результати скринінгових досліджень знеболюючої та протизапальної активності цілого ряду похідних 4-метил-2,2-діоксо-1Н-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів на моделі карагенінового набряку у щурів. Було встановлено, що 4-метил-2,2-діоксо-1Н-2λ⁶,1-бензотіазин карбонова кислота, та її натрієва сіль виявляють помірну протизапальну та виразну анальгезуючу активність. Серед N-піридил-4-метил-2,2-діоксо-1Н-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів сполуки з лабораторними шифрами NI-82, NI-85, NI-86 та NI-87

виявили анальгетичну активність, яка співставлялась або перевершувала референтні препарати – лорноксикам та диклофенак, взяті в аналогічних дозах. В той же час, за протизапальною активністю сполуки NI-85 та NI-86 значно поступались еталонним НПЗЗ, і лише два тест-зразки N-(5-метилпіридин-2-іл)-амід (NI-87) і N-(піридин-3-іл)-амід (NI-82) перевершували лорноксикам за протизапальною активністю.

В групі похідних N-гетарилалкіл-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду не було встановлено сполук, які б за базовими фармакологічними ефектами НПЗЗ могли конкурувати із еталонними представниками цього класу. На противагу, серед бензиламідів 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти було виявлено дві сполуки, які показали високу антифлогогенну та антиноціцептивну активності. Це N-тіофен-2-ілметил- і N-4-метоксибензил-аміди 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполуки з лабораторними шифрами NI-7 та NI-9).

При дослідженні нових оптично чистих енантіомерів N-(1-арилетил)-амідів 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти, а також їх істинних рацематів та механічних сумішів, встановлено, що (S)-енантіомери виявляли низьку біологічну активність, а дзеркальні ізомери, які мали (R)-конфігурацію хіральных центрів, були більш сильними анальгетиками та протизапальними сполуками, ніж лорноксикам і диклофенак. Водночас був виявлений високий рівень активності у рацемічного N-[1-(4-метоксифеніл)етил]4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду, що може бути зумовлено унікальною кристалічною структурою його молекули.

Оцінка гострої токсичності найбільш активних сполук за їх в/оч введення мишам та в/шл введення щурам показала, що найбільш безпечним серед всіх фармацевтичних композицій виявилась N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду (сполука з лабораторним шифром NI-9). Її LD₅₀ за зазначених умов експерименту становила, відповідно 682,0 та

822,6 мг/кг, що було меншим ніж у диклофенака та мелоксикама за аналогічних режимів введення.

Підсумовуючи результати молекулярного докінгу досліджуваного N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду в активний сайт мелоксикаму спрогнозовано високу ступінь афінітету та значну вірогідність реалізації аналгетичного та протизапального ефектів за рахунок інгібування ензиму ЦОГ-2.

Результати цього розділу опубліковано в наступних працях: [59, 60, 201, 285, 286, 289, 290, 291].

РОЗДІЛ 4

ПОГЛИБЛЕНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ
НАЙБІЛЬШ АКТИВНОГО ПОХІДНОГО N-R-4-МЕТИЛ-2,2-ДІОКСО-1H-
2λ⁶,1-БЕНЗОТІАЗИН-3-КАРБОКСАМІДУ

За результатами первинного фармакологічного скринінгу з великої групи N-гетарил(арил)алкіл-заміщених 4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів, їх близьких структурних аналогів і деяких поліморфних модифікацій було виявлено найбільш активні сполуки, які доцільно було вивчати в якості засобів із аналгетичною та протизапальною дією. Проте показник гострої токсичності цих сполук виявив, що найбільш безпечною виявилась речовина N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполука з лабораторним шифром NI-9), що і була обрана в якості сполуки-лідера.

Метою цього розділу роботи стало дослідити аналгезуючу дію N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду на різних моделях больових синдромів.

4.1. Визначення середньої ефективної дози за аналгетичною активністю сполуки-лідера серед похідних N-R-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів, диклофенаку мелоксикаму та лорноксикаму

Наступним кроком роботи було визначити середню ефективну дозу за аналгетичною активністю сполуки-лідера (NI-9), а також порівняти її з відомими лікарськими засобами – неселективними інгібіторами ЦОГ-1 та ЦОГ-2 диклофенаком і лорноксикамам, а також селективним інгібітором ЦОГ-2 мелоксикамом.

Для цього було обрано модель термічного подразнення (тест «tail-flick»). Всі сполуки та препарати порівняння вводили в 5 дозах (0,5, 1,0, 5,0 10,0 та 20,0 мг/кг). Методики приготування розчинів описані в розділі 2. Визначали ЛП відсмикування хвоста перед введенням сполук, а також через 2 год після їх в/шл введення. Середню ефективну дозу визначали за методом найменших квадратів, а також графічним методом (таблиці 4.1-4.4).

Отримані дані свідчать, що на даній моделі ED₅₀ похідного 4-метил-2,2-діоксо-1Н-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду (сполуки NI-9) становила близько 3 м/кг (2,98 ± 0,15 мг/кг). За своєю активністю ця сполука перевершила стандартний НПЗЗ диклофенак, у якого відповідний показник дорівнював 8,29 ± 0,41 мг/кг. Щодо препаратів, як найбільш подібні за хімічною будовою до сполуки, що вивчалась, – лорноксикаму та мелоксикаму, то їх медіанна ефективна анагетична доза становила 5,08 ± 0,25 та 4,67 ± 0,23 мг/кг, відповідно. Тобто на цій моделі ефективність сполуки NI-9 була більшою за референс-препарати.

Таким чином, для подальших поглиблених фармакологічних досліджень обране похідне бензотіазин-3-карбонової кислоти досліджено в дозі 3 мг/кг перорально.

Таблиця 4.1

Середня ефективна доза (ED₅₀) сполуки NI-9 за анагетичною активністю у щурів (M ± m, n = 7)

Доза, мг/кг внутрішньо- шлунково	Латентний період відсмикування хвоста (с)			ED ₅₀
	вихідний рівень	через 120 хв	зміни відносно вихідного рівня, %	
NI-9				
0,5	6,35 ± 0,23	8,27 ± 0,14	31,4 ± 5,28	2,98 ± 0,15 мг/кг
1,0	7,36 ± 0,30	10,29 ± 0,30	40,2 ± 2,42	
5,0	6,02 ± 0,24	10,34 ± 0,33	72,3 ± 3,91	
10,0	6,23 ± 0,30	11,39 ± 0,39	83,7 ± 4,10	
20,0	7,36 ± 0,30	14,11 ± 0,17	93,4 ± 7,69	

Таблиця 4.2

Середня ефективна доза (ЕД₅₀) диклофенака за анальгетичною активністю у щурів (M ± m, n = 7)

Доза, мг/кг внутрішньо- шлунково	Латентний період відсмикування хвоста (с)			ЕД ₅₀
	вихідний рівень	через 120 хв	зміни відносно вихідного рівня, %	
Диклофенак				
0,5	6,06 ± 0,16	7,53 ± 0,22	24,3 ± 2,51	8,29 ± 0,41 мг/кг
1,0	5,57 ± 0,24	7,69 ± 0,28	38,4 ± 2,86	
5,0	5,71 ± 0,14	8,07 ± 0,18	41,5 ± 2,48	
10,0	7,09 ± 0,37	10,29 ± 0,30	46,9 ± 6,73	
20,0	6,40 ± 0,25	11,60 ± 0,44	81,5 ± 1,59	

Таблиця 4.3

Середня ефективна доза (ЕД₅₀) мелоксикама за анальгетичною активністю у щурів (M ± m, n = 7)

Доза, мг/кг внутрішньо- шлунково	Латентний період відсмикування хвоста (с)			ЕД ₅₀
	вихідний рівень	через 120 хв	зміни відносно вихідного рівня, %	
Мелоксикам				
0,5	5,78 ± 0,29	7,23 ± 0,37	25,4 ± 2,80	5,08 ± 0,25 мг/кг
1,0	5,43 ± 0,35	7,75 ± 0,19	45,2 ± 6,82	
5,0	5,09 ± 0,15	8,12 ± 0,15	60,1 ± 3,59	
10,0	6,42 ± 0,34	10,48 ± 0,52	63,7 ± 3,40	
20,0	5,40 ± 0,09	9,30 ± 0,23	72,3 ± 2,84	

Середня ефективна доза (ЕД₅₀) лорноксикама за аналгетичною активністю у щурів ($M \pm m, n = 7$)

Доза, мг/кг внутрішньо- шлунково	Латентний період відсмикування хвоста (с)			ЕД ₅₀
	вихідний рівень	через 120 хв	зміни відносно вихідного рівня, %	
Лорноксикам				
0,5	6,67 ± 0,33	9,28 ± 0,40	39,5 ± 2,15	4,67 ± 0,23 мг/кг
1,0	7,18 ± 0,23	10,10 ± 0,22	41,8 ± 6,27	
5,0	6,41 ± 0,57	9,47 ± 0,49	50,7 ± 5,91	
10,0	6,69 ± 0,25	11,26 ± 0,28	69,3 ± 5,54	
20,0	5,90 ± 0,17	10,3 ± 0,34	70,1 ± 3,76	

Для порівняння аналгетичної ефективності сполуки NI-9 в подальшому обрано еталонний представник нестероїдних протизапальних засобів диклофенак в його середній ефективній дозі 8 мг/кг, а також селективний інгібітор ЦОГ-2 мелоксикам в дозі 5 мг/кг. Його вибір обумовлений як структурною подібністю молекул, так і результатами молекулярного докінгу досліджуваного N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду, який показав значну вірогідність реалізації ефектів цієї сполуки за рахунок інгібування ензиму ЦОГ-2.

4.2. Дослідження аналгетичної активності N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду на моделі вісцерального больового синдрому

В якості моделі цього типу больового синдрому обрано модель оцтовокислих корчів. Цей тест, як і інші хімічні тести базуються на змінах чутливості С-полімодалних ноціцепторів при змінах рН середовища. Він віддеркалює модель хімічно-індукованого перитоніту у тварин [36, 54]. Дослідження

виконані на 40 білих нелінійних мишах обох статей масою 20-22 г, методика експерименту описана в розділі 2. N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамід та препарати порівняння вводили в/шл за 1 год до індукції корчів в їх медіанних аналгетичних дозах, які були визначені в попередньому підрозділі.

Результати показали, що введення щурам групи контролю розчину оцтової кислоти викликало больову реакцію, яка проявлялась у вигляді спастичних скорочень абдомінальної мускулатури в кількості $44,1 \pm 3,48$. На тлі введення щурам похідного карбоксаміду (NI-9) спостерігалось статистично значуще зменшення кількості корчів за 20 хв після подразнення очеревини оцтовою кислотою на 38,1 %, що свідчило про наявність у неї аналгетичної дії. Референс-препарати мелоксикам і диклофенак також зменшували кількість флексорних скорочень м'язів у мишей на 36,7 та 41,9 %, відповідно, однак це не мало статистично значущої різниці із сполукою, що вивчалась (рис. 4.1).

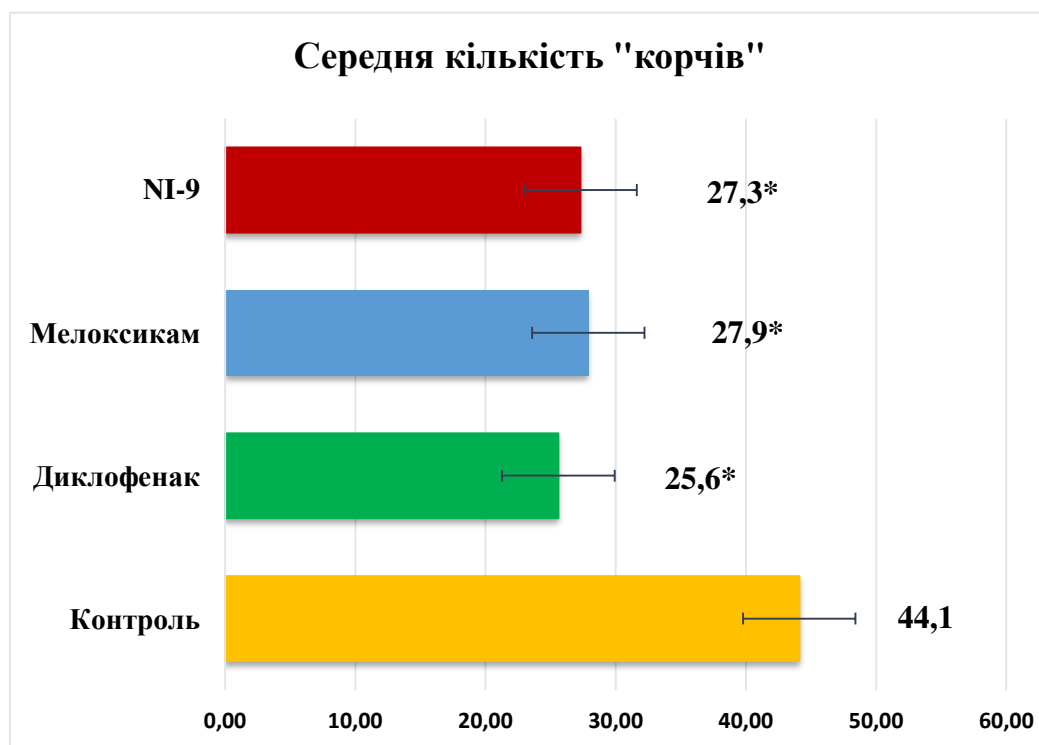


Рис. 4.1 Аналгетична дія сполуки NI-9, диклофенаку та мелоксикаму на моделі оцтово-кислих корчів у мишей (n = 10). Примітка: * – статистично значуще зменшення кількості корчів щодо контролю.

4.3 Дослідження аналгетичної активності N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду на моделі термічного соматичного больового синдрому

Найбільш відомою варіацією цього методу є метод відсмикування хвоста від теплового променя «tail-flick» у щурів. Він заснований на спінальному флексорному рефлексі у відповідь на прогресивне збільшення теплового впливу на поверхню шкіри. В цьому тесті послідовно активуються терморцептори, С-волокна та Ad-волокна полімодальних ноцицепторів, а також високопорогові механорецептори [36]. Досліджувані сполуки вводили у вищезазначених дозах. Зміни латентного періоду відсмикування хвоста визначали до введення сполук, а також на 1-й, 2-й, 3-й та 4-й год після їх в/шл введення.

Результати дослідження представлені на рис. 4.2. Показано, що сполука NI-9 виявляла статистично значущу знеболюючу дію, починаючи з 1-ї год, яка сягала максимуму на 2-й год після введення, тривала практично без змін до 4-ї год, і потім поступово зменшувалась, однак і на 6-й год ще була достатньо виразною. Найбільш подібний за хімічною будовою препарат мелоксикам поступався за силою аналгезії, особливо на пізніх термінах дослідження. Еталонний представник НПЗЗ – диклофенак – на 1-й год дослідження статистично переважав обидва препарати за силою знеболюючого ефекта, на 2-й год – зрівнявся з ними, однак на 4-й та 6-й год його антиноцицептивна дія значно зменшувалась, і сягала, відповідно 21,2 та 15,0 % щодо вихідного рівня.

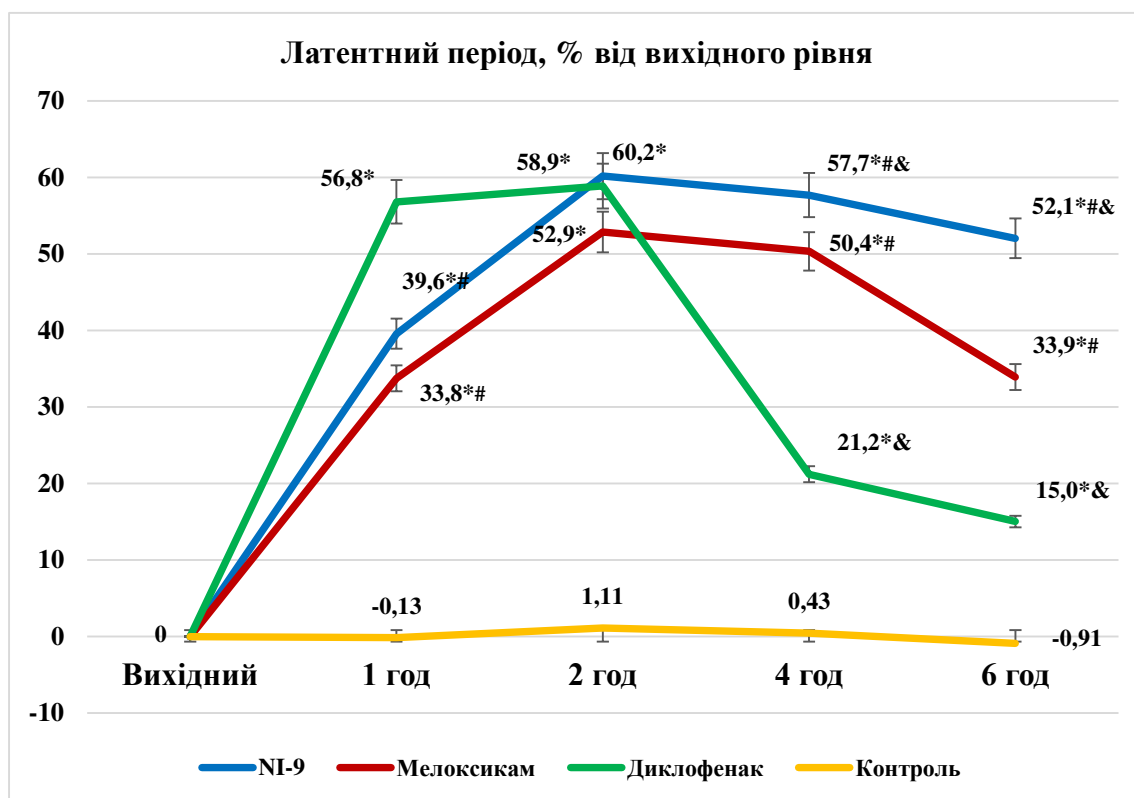


Рис. 4.2 Аналгетична дія сполуки NI-9 та референс-препаратів на моделі термічного подразнення “tail-flick” у щурів (n=7). Примітка: * – статистично значущі відмінності відносно контролю ($p < 0,05$); # – статистично значущі відмінності відносно диклофенака ($p < 0,05$); & – статистично значущі відмінності відносно мелоксикама ($p < 0,05$).

4.4. Дослідження аналгетичної активності N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду на моделі хронічного автоімунного процесу (ад’ювантного артриту) у щурів

Наступним етапом стало дослідження аналгезуючої дії сполуки NI-9, мелоксикаму та диклофенаку на моделі системного запального процесу – ад’ювантного артриту у щурів. Даний метод дозволяє оцінити ефективність препаратів, які застосовують при артралгіях міалгіях та інших соматогенних больових синдромах. АДА є найбільш поширеною в експериментальній фармакології моделлю системного захворювання, яке супроводжується

ураженням тканин суглобів і є близьким до патогенезу і морфофункціональних змін при колагенових захворюваннях у людей [63, 70]. АДА викликали одноразовим введенням під субплантарний апоневроз правої задньої кінцівки щура повного ад'юванта Фрейнда, як описано в розділі 2.

Після субплантарного введення ад'юванта Фрейнда у всіх щурів спостерігали місцеву запальну реакцію: швидкий розвиток гіперемії і набряку ураженої кінцівки, який сягав максимуму на 3-тю добу експерименту, а на 5-ту. На 14-ту добу відбулося значне повторне підсилення запалення, у більшості тварин з'являлися ознаки генералізованого артриту, які проявлялися ураженням другої лапи. Таке повторне збільшення явищ ексудації у тварин свідчить про системний імунологічний характер захворювання, який супроводжується макроскопічними, гематологічними та іншими змінами в організмі щурів, в тому числі і запальною гіперальгезією (табл. 4.5). Про це свідчило статистично значуще зниження показника ПБЧ на 14 добу в середньому на 31,2 % в порівнянні з показником до введення ад'юванта Фрейнда (рис. 4.3).

Таблиця 4.5

Дослідження анальгезуючої дії сполуки NI-9 в порівнянні з мелоксикамом та диклофенаком за умов їх внутрішньошлункового введення на моделі ад'ювантного артрита у щурів ($M \pm m$), $n = 7$

Групи	ПБЧ, г/мм ²		
	Вихідний рівень	На 14-ту добу	На 28-му добу
1	2	3	4
Контроль	583,57 ± 27,7	575,7 ± 26,6 *	581,3 ± 29,9 *
АА без лікування	567,9 ± 33,7	392,8 ± 35,2	434,3 ± 28,4
АА + NI-9 (3 мг/кг в/шл)	685,7 ± 33,0	504,3 ± 31,5	610,0 ± 22,7

Продовження таблиці 4.5.

1	2	3	4
АА + Мелоксикам (5 мг/кг в/шл)	652,9 ± 25,0	468,6 ± 27,9	554,4 ± 26,1
АА + Диклофенак (8 мг/кг в/шл)	545,7 ± 11,7	385,7 ± 16,0	457,1 ± 8,65

Примітки:

1. * – статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) відносно 14 доби у відповідній групі;
2. # – статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) відносно диклофенаку;
3. & – статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) відносно мелоксикама.

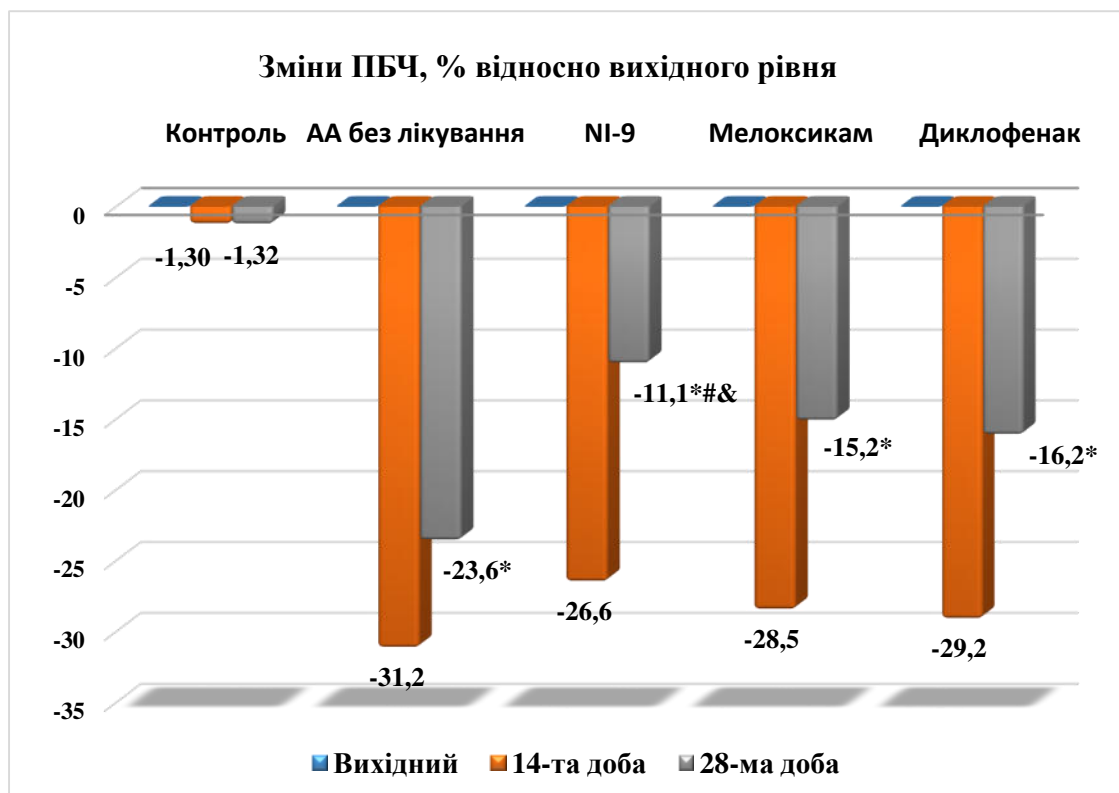


Рис. 4.3 Аналгетична дія сполуки NI-9 та референс-препаратів на моделі ад'ювантного артриту у щурів ($n = 7$). Примітка: * – статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) відносно 14 доби у відповідній групі; # – статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) відносно диклофенаку; & – статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) відносно мелоксикама.

В подальшому тварин із сформованим артритом було поділено на 4 групи. Тваринам негативного контролю (АДА без лікування) в/шл вводили розчинники, а щурам 2 - 4 груп щоденно 1 раз на добу в/шл вводили сполуку NI-9, мелоксикам та диклофенак в їх медіанних терапевтичних дозах за анальгетичною активністю, які були розраховані вище. Повторне вимірювання больової чутливості проводили на 28-му добу експерименту.

Результати показали, що у тварин з АДА без лікування відбувалось деяке підвищення ПБЧ, скоріше за все, за рахунок компенсаторно-приспосувальних реакцій організму, однак на 28 добу цей показник ще залишався значно меншим (на 23,6 %, $p < 0,05$) за вихідний рівень (див. рис. 4.3). 2-х тижневе лікування щурів сполукою NI-9, подібно до мелоксикаму та диклофенаку, суттєво зменшувало прояви гіпералгезії та інші ознаки запальної реакції, про що свідчить статистично значуще підвищення ПБЧ у всіх трьох групах. Про цьому найбільш потужний анальгетичний ефект проявило саме похідне карбоксаміду (див. табл. 4.5). Так, на тлі його введення ПБЧ був нижчим за вихідний рівень лише на 11,1 % (проти 26,6 % до початку лікування). Аналогічний показник 28-ї доби в групі мелоксикаму та диклофенаку становили, відповідно, 15,2 та 16,2 % ($p < 0,05$) (див. рис. 4.3).

Таким чином можна відмітити, що похідне карбоксаміду на цій моделі больового синдрому, в патогенезі якого лежать запальні та автоімунні процеси, перевершував обидва референс-препарати.

4.5. Дослідження анальгетичної активності N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду на моделі нейропатичного больового синдрому

В подальшому було оцінено здатність сполуки NI-9 впливати на перебіг нейропатичного больового синдрому. Цей больовий синдром у щурів

розвивався на тлі цукрового діабета, викликаного одноразовим внутрішньочеревним введенням стрептозотоцину (60 мг/кг).

В дослідження було взято 35 щурів лінії Вістар. У всіх тварин вимірювали масу тіла, рівень глікемії (за допомогою глюкометра), визначали ПБЧ. Появу нейропатії вважали, коли ПБЧ знижувався на статистично вірогідний рівень відносно вихідного значення (за даними літератури, це відбувалось на 10-14 добу) [36]. Крім того, спостерігали за поведінкою тварин, реєстрували летальність, а також оцінювали стан кінцівок (появу змін нігтів та суглобів). Всі вказані показники досліджували в динаміці кожні 7 днів. Тварини були поділені на 2 групи: 1 група (n = 7) – контрольні тварини (отримували розчинники), тваринам 2-ої групи (n = 28) одноразово в/оч вводили стрептозоточин в дозі 60 мг/кг. Порівнювали масу тіла, ПБЧ на кінцівці та глікемію перед початком експерименту (вихідний рівень), а також кожні 7 днів протягом 6 тижнів.

Результати показали, що одноразове введення стрептозотоцину викликало розвиток експериментального ЦД. Протягом всього терміну спостереження (6 тижнів) тварини споживали значно більшу кількість води (полідіпсія), суттєво збільшилось сечовиділення (поліурія), тварини ставали млявими, погано споживали корм, втрачали вагу (рис. 4.4). Спостерігались випадки загибелі тварин.



А



Б

Рис. 4.4. Фото інтактного щура (А), тварини на 6-й тиждень після відтворення стрептозотоцинового діабета (Б).

Окрім цих ознак, у тварин розвивались і зовнішні ознаки полінейропатії, яка проявлялась змінами нігтів тварин, міжфалангових суглобів та плюсневих кісток. (рис. 4.5)

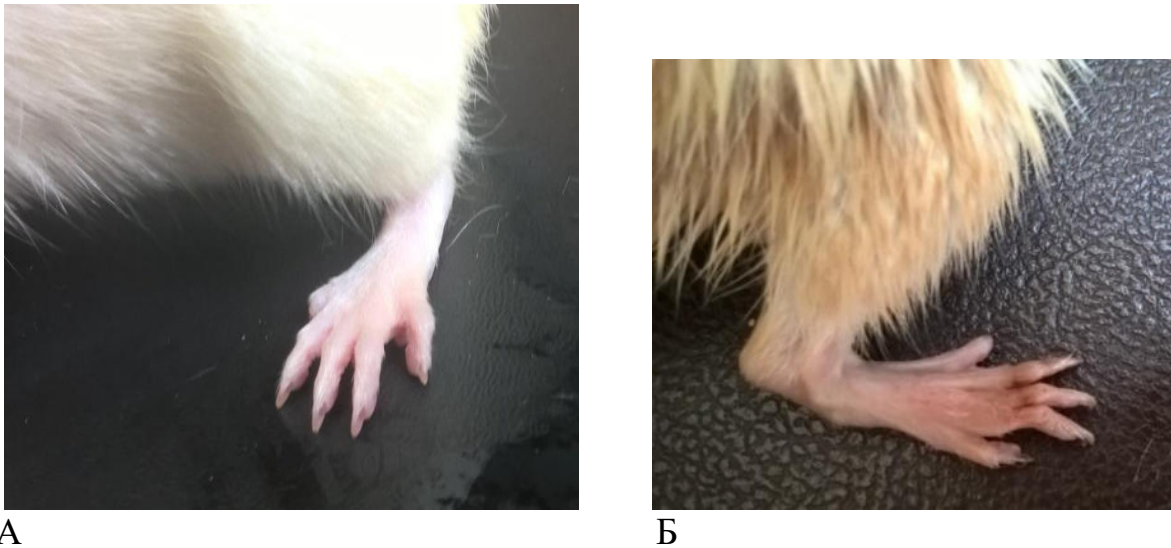


Рис. 4.5. Фото кінцівки інтактного щура (А), кінцівка щура на 6-й тиждень після відтворення стрептозотоцинового діабета з виразними ознаками ушкодження (Б).

Результати визначення динаміки маси тіла тварин показав, що протягом 6-тижневого спостереження у тварин після введення стрептозотоцину відмічене прогресивне зменшення маси тіла на 9,35, 13,6, 19,3, 22,7, 25,3 та 24,9 % на 1, 2, 3, 4, 5 та 6 тиждень, відповідно, порівняно з показником початкового рівня. У інтактних щурів, яким не моделювали патологічного стану, показник маси тіла в аналогічні терміни дослідження, навпаки, збільшився в середньому на 2,51, 4,75, 7,26, 9,78, 11,5, та 15,1 % (таб. 4.6, рис. 4.6).

Таблиця 4.6.

Динаміка маси тіла у щурів на тлі введення стрептозотоцину
(60 мг/кг в/оч)

Умови експеримента	Вихідний рівень	1 тиждень	2 тиждень	3 тиждень	4 тиждень	5 тиждень	6 тиждень
Контроль (розчинник), n = 7							
M	255,7	262,1	267,9 *	274,3 *	280,7 *	285,0 *	294,3 *
m	5,71	5,96	5,76	6,02	7,82	8,31	8,55
ЦД без лікування (стрептозоточин, 60 мг/кг в/оч), n = 28							
M	249,3	226,0 **	215,3 */**	201,3 */**	192,7 */**	186,3 */**	187,0 */**
m	6,28	6,60	5,33	4,24	4,63	4,59	6,40

Примітки:

1. * - вірогідні відмінності ($p < 0,05$) щодо вихідного рівня
2. ** - вірогідні відмінності ($p < 0,05$) щодо контролю

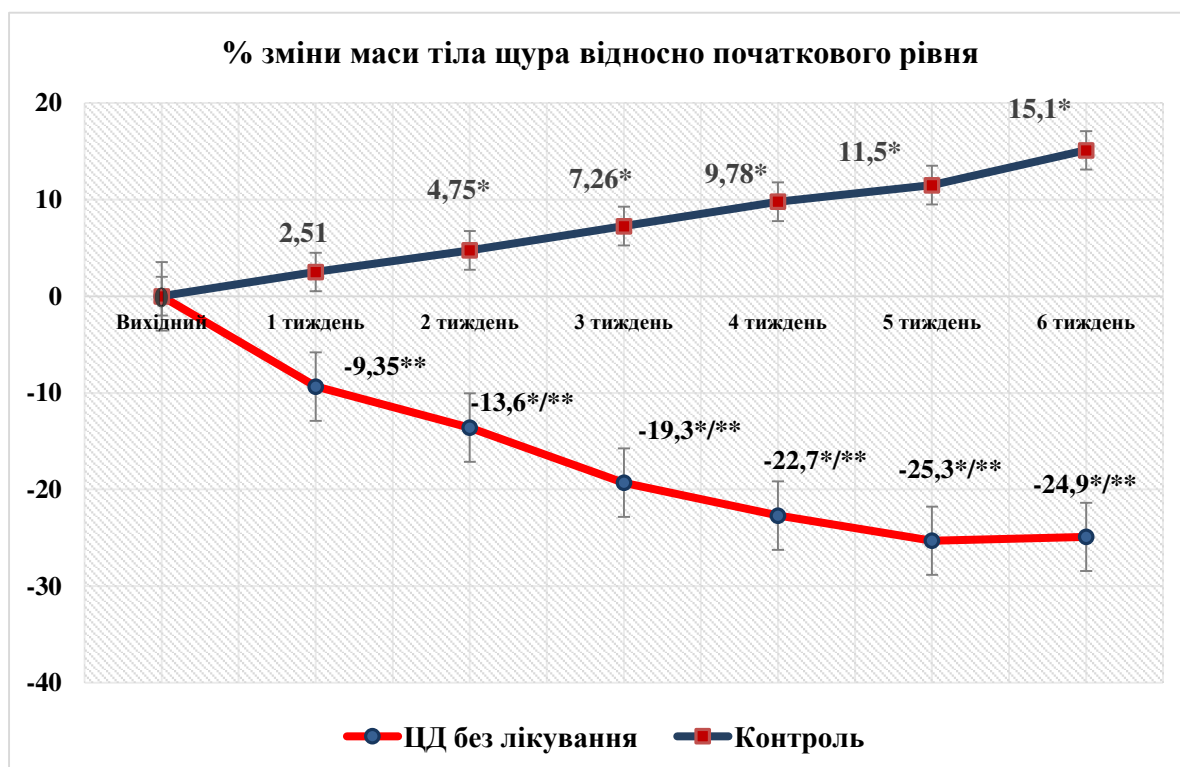


Рис. 4.6 Динаміка маси тіла у щурів з стрептозотоциновим цукровим діабетом.

Примітка: * - вірогідні відмінності ($p < 0,05$) щодо вихідного рівня; ** - вірогідні відмінності ($p < 0,05$) щодо контролю.

Аналіз динаміки вмісту глюкози в крові показав, що після введення стрептозотоцину пік гіперглікемії припадав на 1-й тиждень експерименту, коли показник глюкози підвищувався в 6,16 рази ($p < 0,05$), і подекуди сягав верхньої межі вимірювання глюкометра (35 ммоль/л). В подальшому спостерігалось незначне зниження рівня глюкози та її стабілізація, однак на 6-й тиждень він перевершував вихідні значення в 3,86 рази ($p < 0,05$) (рис. 4.7).

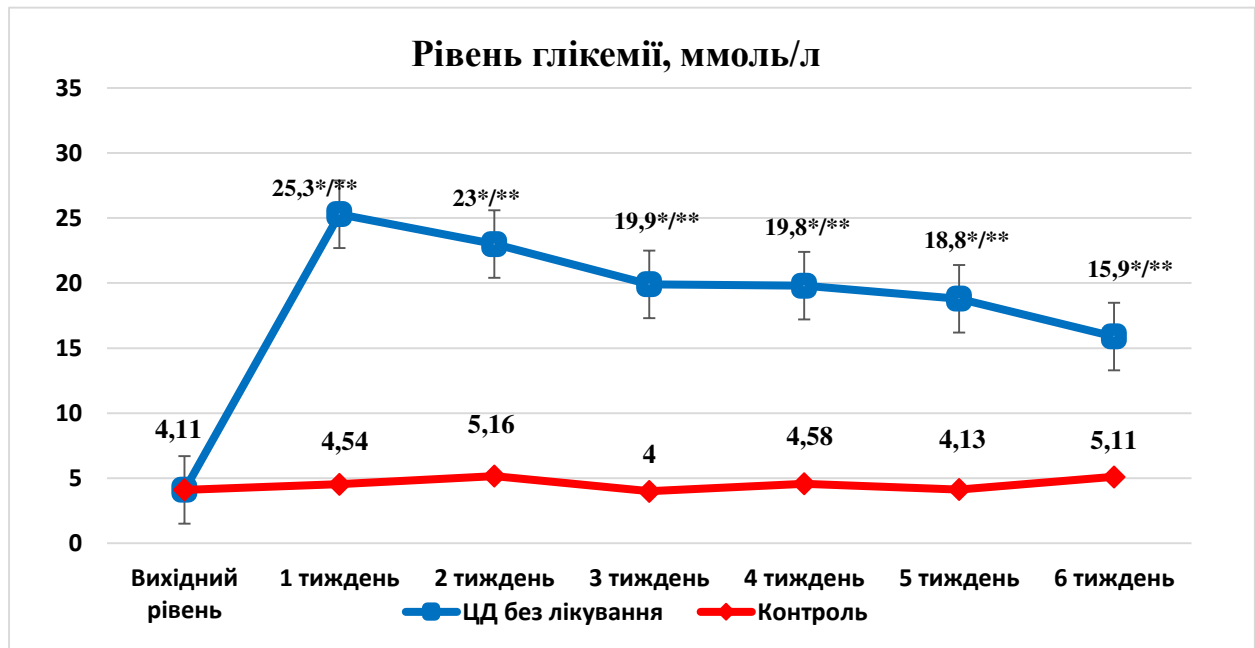


Рис. 4.7 Динаміка рівня глікемії у щурів після введення стрептозотоцину.

Примітки: * - вірогідні відмінності ($p < 0,05$) щодо вихідного рівня; ** - вірогідні відмінності ($p < 0,05$) щодо контролю.

В цей же час у контрольних тварин, яким не вводили стрептозотонин, рівень глюкози в крові коливався незначно і відмінності не сягали статистично вірогідних значень.

Окрім зовнішніх ознак патологічного процесу та змін рівня глюкози в крові, розвиток експериментального діабету супроводжувався клінічними ознаками полінейропатії та змінами порогу больової чутливості у щурів. Вже на 7-му добу після введення стрептозотоцину, ПБЧ у нелікованих тварин становив $428,0 \pm 27,7$ г/мм², що було статистично менше за вихідне значення на 22,3 % ($p < 0,05$). В подальшому у тварин з ЦД без корекції ПБЧ продовжував

знижуватись протягом всього періоду спостереження, і на 6-му тижні знизився на 64,6% відносно вихідного рівня (табл. 4.7).

Таблиця 4.7

Дослідження анальгезуючої дії сполуки NI-9 в порівнянні з мелоксикамом та габапентином за умов їх одноразового внутрішньошлункового введення на моделі діабетичної нейропатії у щурів ($M \pm m$), $n = 7$

Групи	ПБЧ, г/мм ²		
	вихідний рівень	на 6-й тиждень	через 2 години після введення сполук
Контроль	586,3 ± 21,2	570,3 ± 11,6	-
ЦД без лікування (негативний контроль)	551,0 ± 13,8	194,0 ± 24,8 *	195,0 ± 25,0 *
NI-9 (3 мг/кг в/шл)	680,0 ± 22,1	218,3 ± 12,3	285,8 ± 20,1
Мелоксикам (5 мг/кг в/шл)	606,3 ± 23,8	200,0 ± 20,6 *	247,5 ± 18,2 *# [♯]
Габапентин (5 мг/кг в/шл)	660,8 ± 29,9	215,0 ± 20,2 *	289,2 ± 15,1 *

Примітки:

1. - *- статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно контролю;
2. - # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника 6-го тижня
3. - ♯ - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно габапентина

Таким чином, наприкінці 6-го тижня експерименту було отримано модель діабетичної полінейропатії, яка характеризувалась як клінічними (зміни нігтів тварин, міжфалангових суглобів та плюсневих кісток), так і інструментальними та лабораторними ознаками.

Для досліджень здатності досліджуваних сполук купірувати больовий синдром при одноразовому введенні на тлі сформованої патології (діабетичної

нейропатії) тварини групи «ЦД без лікування» (загальною кількістю 28 особин), були емпірично поділені на 4 групи по 7 щурів в кожній.

Тварини 1 групи отримували розчинники (негативний контроль), тваринам 2-ї, 3-ї та 4-ї груп після вимірювання вихідного показника ПБЧ, одноразово в/шл вводили сполуку NI-9, референтний НПЗЗ мелоксикам в середніх ефективних дозах, а також еталонний препарат, який традиційно показаний для лікування нейропатичного больового синдрому - габапентин (5 мг/кг). Через 2 год (пік знеболюючої активності NI-9 за нашими попередніми дослідженнями) оцінювали зміни показника, що вивчався. Результати представлені в таблиці 4.7. та на рис. 4.8.

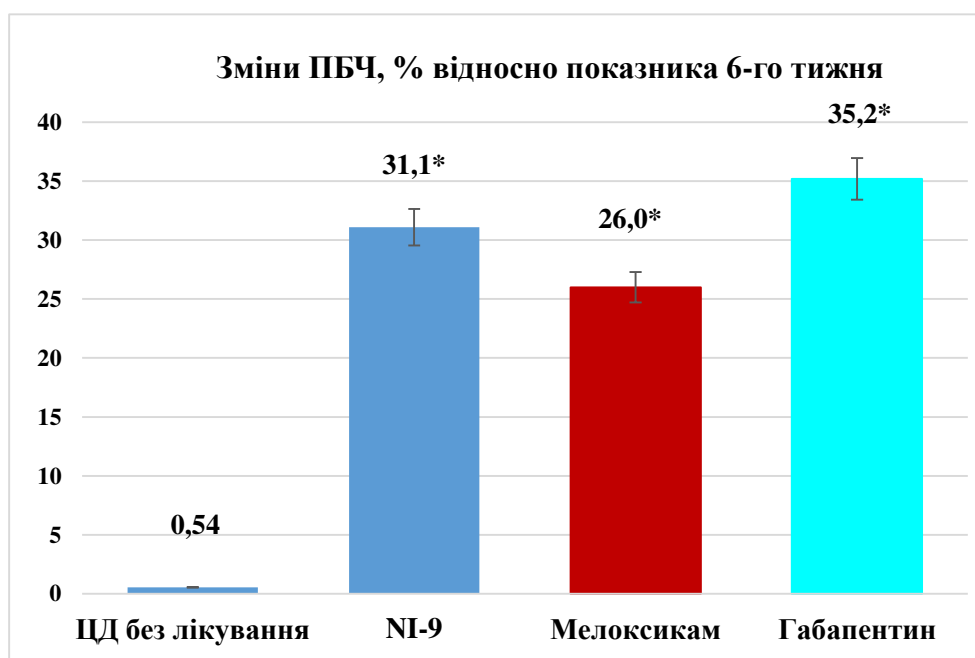


Рис. 4.8 Знеболююча активність NI-9, мелоксикаму та габапентину за їх одноразового в/оч введення у щурів з діабетичною нейропатією. Примітка: * – статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) відносно показника 6-го тижня у відповідній групі.

Введення сполуки NI-9 в дозі 3 мг/кг виявило значну антиноціцептивну дію: ПБЧ статистично значуще підвищився на 31,3 % ($p < 0,05$), порівняно з показником до введення, що було вище за дію референс-препарата мелоксикама, який викликав зростання даного показника в середньому на 26,0

% ($p < 0,05$) Обидві сполуки поступались аналгетичній дії похідного ГАМК (габапентину), який збільшував показник больової чутливості на 35,2 % ($p < 0,05$) порівняно з показником до введення препарату (див. рис. 4.12).

Висновок до розділу 4.

В даному розділі було визначено середню ефективну дозу (ED_{50}) за аналгетичною активністю сполуки-лідера серед великої групи N-гетарил(арил)алкіл-заміщених 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів, якою виявилась сполука з лабораторним шифром NI-9 на моделі «tail-flick» у щурів. Вона становила $2,98 \pm 0,15$ мг/кг в/шл. При порівнянні ефективності цієї сполуки з неселективними інгібіторами ЦОГ-1 та ЦОГ-2 диклофенаком і лорноксикамамом, а також селективним інгібітором ЦОГ-2 мелоксикамом, було встановлено, що NI-9 була більш ефективною, оскільки її ED_{50} перевершувала референтні препарати диклофенак, лорноксикам та мелоксикам в 2,78, 1,70 та 1,57 рази, відповідно.

Подальші поглиблені дослідження фармакологічної активності N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду на різних моделях больових синдромів, як соматичного, так і запального і нейрогенного походження показало, що NI-9 здатна усувати больовий синдром соматичного походження (модель оцтово-кислих корчів у мишей), оскільки статистично вірогідно зменшує кількість корчів на 38,1 % ($p < 0,05$), співставно із дією мелоксикаму, однак поступалась диклофенаку.

На моделі центрального вісцерального болю (термічне подразнення) похідне карбоксаміду незначно перевершувала мелоксикам та практично не відрізнялась за силою аналгезії від диклофенака на 2-й год експерименту, а за тривалістю ефекту значно перевершувала диклофенак і мелоксикам (в 3,47 та 1,54 рази, відповідно на 6-й год експерименту, $p < 0,05$).

На моделі периферичного больового синдрому запального походження (АДА у щурів), сполука NI-9 більш ефективно зменшувала ознаки гіпералгезії,

ніж селективний інгібітор ЦОГ-2 мелоксикам (в 1,37 рази), та неселективний інгібітор ЦОГ-1 та ЦОГ-2 диклофенак (в 1,46 рази).

На моделі нейропатичного больового синдрому (діабетична нейропатія, викликана стрептозотоцином), сполука NI-9 статистично значуще підвищувала больовий поріг на 31,3 % ($p < 0,05$), що було вище за дію референс-препарата мелоксикама (26,0 % ($p < 0,05$)). Обидві сполуки поступались аналгетичній дії похідного ГАМК (габапентину), який збільшував показник больової чутливості на 35,2 % ($p < 0,05$). Таким чином, за силою аналгетичного ефекту сполука з лабораторним шифром NI-9 переважає мелоксикам на всіх моделях больових синдромів, та диклофенак на моделі експериментального запалення (АДА). Подальше поглиблене вивчення її фармакодинаміки та токсичності стане теоретичним підґрунтям для розробки на основі цієї біологічно активної сполуки оригінального лікарського засобу із знеболюючою та протизапальною активностями.

Результати цього розділу опубліковані в наступних працях: [34, 200].

РОЗДІЛ 5

ДОСЛІДЖЕННЯ УЛЬЦЕРОГЕННОГО ПОТЕНЦІАЛУ N-(4-МЕТОКСИБЕНЗИЛ)-4-МЕТИЛ-2,2-ДІКСО-1H-2 Λ⁶,1-БЕНЗОТІАЗИН-3-КАРБОНОВОЇ КИСЛОТИ (СПОЛУКИ NI-9)

Результати, отримані в попередніх розділах, продемонстрували, що в результаті біоізостеричної заміни в молекулі 4-метил-2,2-діксо-1H-2Λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів отримано біологічно активну сполуку, яка володіє виразною анагетичною активністю на різних експериментальних моделях, протизапальною дією, а також має високу активність і низьку токсичність у порівнянні із еталонними НПЗЗ. Однак для всіх представників цього класу, і в тому числі і для похідних карбонових кислот, найбільш типовим та небажаним ефектом є їх пошкоджуюча дія на шлунок. Враховуючи велику популярність цих препаратів в світі (їх купують безрецептурно, та щорічно використовують більше 30 млн. людей у всьому світі), проблема безпеки щодо ШКТ є важливою складовою їх фармакологічного досьє. Саме з'ясуванню цього питання присвячено наступний розділ роботи.

5.1. Макроскопічна оцінка стану слизової оболонки шлунка за тривалого введення сполуки NI-9 та мелоксикаму

На цьому етапі визначали впливу сполуки NI-9 на шлунок при тривалому застосуванні (28 днів) в середній ефективній дозі 3 мг/кг, яка була встановлена в попередніх дослідженнях. В якості референтного препарата взято мелоксикам, який вводили в його середній ефективній дозі, яка становила 5 мг/кг. Обидві сполуки вводили один раз на добу зранку натще на водному розчині «Твін 80» Контрольні тварини отримували еквіоб'ємні кількості розчинників.

Протягом експерименту тварини контрольної та дослідженої груп не проявляли ознак пригнічення ЦНС, зовнішній вигляд, харчова поведінка їх знаходилась в межах норми.

Отримані нами результати показали, що тривале введення сполуки що вивчалась, не викликала змін харчової поведінки, зовнішнього вигляду щурів та не приводила до загибелі (табл. 5.1). Приріст маси тіла у тварин, яким вводили сполуку NI-9, становив $12,8 \pm 1,42$ %, що був вищим, ніж в групі мелоксикаму ($9,18 \pm 1,35$ %). Маса тіла у щурів контрольної групи за цей період зросла на $13,7 \pm 1,54$ %, однак ці відмінності не мали вірогідного характеру.

Таблиця 5.1

Динаміка маси тіла та ознаки ушкодження шлунка на тлі сполуки NI-9 та мелоксикаму за умов тривалого введення у щурів ($M \pm m$, $n = 7$).

Умови досліджу	Маса тіла, г			Кількість тварин, з ознаками ушкодження шлунка			
	1-ша доба	28-ма доба	Приріст, %	Здуття	Гіперемія	Згладженість	Крово-виливи
Контроль	188,6 $\pm 3,03$	214,3 $\pm 2,30$	13,7 $\pm 1,54$	0	0	0	0
Сполука NI-9 (3 мг/кг)	182,9 $\pm 1,84$	205,0 $\pm 1,54$	12,8 $\pm 1,42$	3	4	2	5
Мелоксикам (5 мг/кг)	187,9 $\pm 1,84$	205,0 $\pm 1,89$	9,18 $\pm 1,35$	3	7	7	3

Примітка: * – статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) відносно контролю.

Як було встановлено, обидва похідних оксикамів за їх тривалого застосування викликали ознаки ушкодження СОШ різного характеру. Так, здуття шлунка було виражене в однаковій мірі (у 42,8 % тварин обох дослідних груп). Водночас гіперемія та згладженість слизової спостерігалась у всіх тварин, яким вводили мелоксикам, тоді як на тлі дії сполуки NI-9 ці ознаки виявлялись у 4-х з 7-ми тварин (57,1 %) та 2-х із 7 тварин (28,6 %), відповідно.

Проте в цій групі щурів зареєстровано більша кількість тварин із крововиливами в слизову оболонку (5 із 7 щурів – 74,1 %), а в групі щурів, які отримували мелоксикам точкові геморагії знайдено лише у 3-х тварин (42,8 %).

Аналізуючи ступінь виразкових уражень шлунка після тривалого введення сполуки NI-9 та референтного препарату, виявлено, що 28-денне в/шл введення похідного карбоксаміду викликало виразкові ураження у 71,4 % тварин проти 85,7 % в групі, якій вводили мелоксикам. Множинність виразкування на тлі введення похідного 4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти була на 54,2 %, а важкість – на 30,8 % меншою, ніж у референс-препарату (табл. 5.2). Виразковий індекс сполуки NI-9 був в 1,73 рази меншим, ніж у мелоксикама.

Таблиця 5.2

Показники гастротоксичності сполуки NI-9 та мелоксикаму за умов тривалого введення у щурів ($M \pm m$, $n = 7$)

Умови досліджу	Множинність	Важкість	Виразковий індекс
Контроль	0	0	0
Сполука NI-9 (3 мг/кг)	1,14 ± 0,20*	0,86 ± 0,16*	0,64
Мелоксикам (5 мг/кг)	2,43 ± 0,37	1,28 ± 0,18	1,11

Примітка: * – статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) відносно мелоксикаму.

Таким чином, за результатами цієї частини дослідження було встановлено, що сполука NI-9 за ступенем пошкоджуючої дії на шлунок за умов хронічного введення є більш безпечною, ніж мелоксикам, що є підтвердженням незначної шкідливості цієї сполуки, зокрема, на шлунково-кишковий тракт.

5.2. Зміни біохімічних маркерів стану слизової оболонки шлунку у щурів на тлі сполуки NI-9 та мелоксикаму

Оскільки захисний потенціал СОШ у відповідь на дію пошкоджуючих чинників, в тому числі і препаратів з групи НПЗЗ, реалізується із залученням різних механізмів – передепітеліального, епітеліального та постепітеліального, то наступним етапом роботи було оцінити зміни біохімічних маркерів стану СОШ у щурів на тлі сполуки NI-9 та мелоксикаму в порівнянні з контрольними тваринами.

Результати показали, що обидві сполуки мали негативний вплив на продукцію слизу в шлунку, про що свідчить зменшення вмісту глікозаміногліканів в СОШ (рис. 5.1). Проте, на тлі дії похідного карбоксамідів падіння цього показника становило 11,2 % відносно контролю, тоді як у тварин, яким вводили мелоксикам, цей показник знизився більш виразно (на 21,1 %, $p < 0,05$).

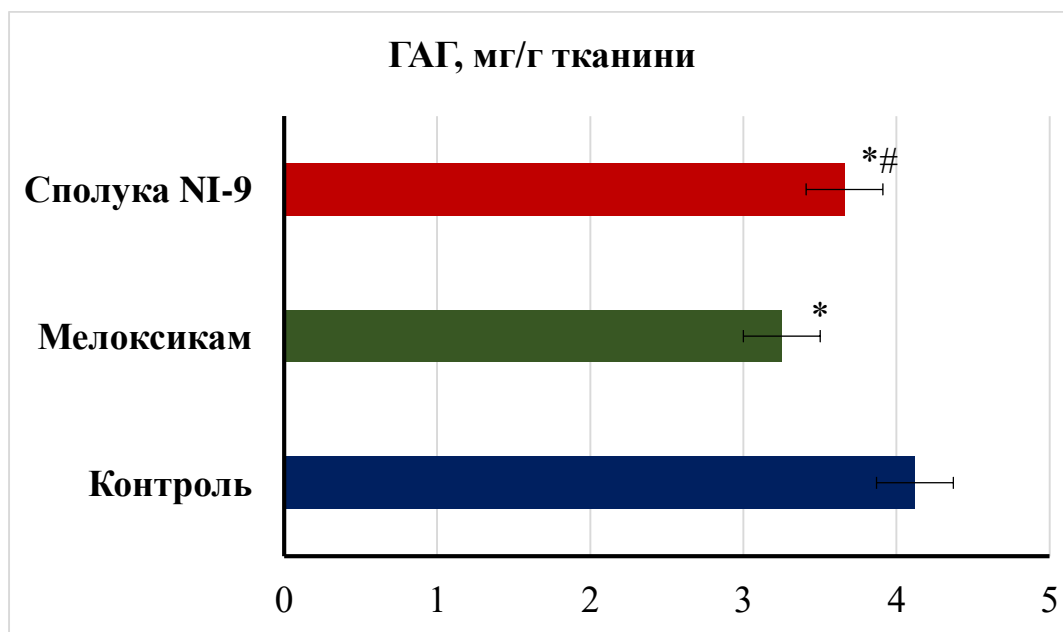


Рис. 5.1 Вплив сполуки NI-9 та мелоксикаму на вміст глікозаміногліканів в СОШ інтактних щурів. Примітки: * - $p < 0,05$ відносно інтактних тварин; # - $p < 0,05$ між групами тварин, які отримували мелоксикам та сполуку NI-9.

Важливим механізмом гастротоксичності НПЗЗ є розвиток оксидативного стресу в СОШ. Тому надалі ми оцінили зміни продуктів перекисного окислення ліпідів та протеїнів на тлі дії сполук, що вивчались. Результати, які наведені в табл. 5.3, показали, що сполука NI-9 сприяла посиленню процесів перекисного окислення ліпідів та протеїнів в СОШ, про що свідчить вірогідне зростання вмісту МДА та КГП в СОШ на 2,7 % та 14,3 % порівняно з контрольними щурами, однак це збільшення було на 12,7 % та 11,9 % меншим, ніж на тлі введення референс-препарату ($p < 0,05$).

Таблиця 5.3

Вплив сполуки NI-9 та мелоксикаму на рівень продуктів перекисного окиснення ліпідів та протеїнів в СОШ щурів ($M \pm m$, $n = 7$)

№ з/п	Групи щурів	МДА, нмоль/мг протеїна	КГП, нмоль/мг протеїна
1	Інтактні	$6,70 \pm 0,29$	$2,44 \pm 0,09$
2	Мелоксикам	$9,24 \pm 0,30^*$	$3,17 \pm 0,13^*$
2	Сполука NI-9	$8,09 \pm 0,37^{*#}$	$2,79 \pm 0,08^{*#}$

Примітки:

1. * - $p < 0,05$ відносно інтактних тварин;
2. # - $p < 0,05$ між групами тварин, які отримували мелоксикам та сполуку NI-9.

За умов експерименту також змінювався стан слизового бар'єру СОШ, про свідчили зміни фосfolіпідного спектру клітинних мембран СОШ. Сполука NI-9 викликала статистично вірогідне зменшення вмісту загальних фосfolіпідів та фосфатидилхоліну на 13,5 %, та 29,9 %, відповідно, ($p < 0,05$), з одночасним підвищенням вмісту лізофосфатидилхоліну та

фосфатидилетаноламіну на 22,2 % та 19,0 %, відповідно, ($p < 0,05$). Ці показники були меншими від змін, які викликав мелоксикам, однак ця різниця не сягала статистично вірогідних значень (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

Вплив сполуки NI-9 та мелоксикаму на фосфоліпідний спектр СОШ щурів

($M \pm m, n = 7$)

№ з/п	Рівень фосфоліпідів, мкг/мг протеїна	Групи тварин		
		інтактні	мелоксикам	сполука NI-9
1	Загальні ФЛ	275 ± 8,28	222 ± 7,82 *	238 ± 5,76 *
2	ФХ	120 ± 5,89	78,6 ± 4,21 *	84,1 ± 3,89 *
3	ФЕ	64,8 ± 4,83	80,4 ± 4,52 *	79,2 ± 4,35 *
4	ЛФХ	18,9 ± 1,22	23,4 ± 1,29 *	22,5 ± 1,09 *

Примітка. * - $p < 0,05$ відносно інтактних тварин

Добре відомо, що в основі порушень цілісності СОШ на тлі НПЗЗ лежать розлади мікроциркуляції, які приводять до превалювання вазоконстрикторних впливів та зменшення продукції вазодилатуючих молекул, зокрема, нітроген монооксиду. Тому далі ми оцінили загальний вміст нітратів і нітритів в СОШ за умов введення сполуки NI-9 в порівнянні з мелоксикамом (табл. 5.5).

Дослідження показали, що застосування типового представника групи селективних інгібіторів ЦОГ-2 мелоксикаму супроводжується достовірним зменшенням вмісту $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ в СОШ на 20,6 % відповідно, тоді як 28-денне введення сполуки NI-9 – практично не змінювало вміст цих молекул в шлунку. Подібна тенденція була виявлена і щодо вмісту гідроген сульфіді – вазоактивної молекули, яка регулює цілісність СОШ та відіграє важливу захисну роль за умов НПЗЗ-індукованих гастропатій [300].

Вплив сполуки NI-9 та мелоксикаму на вміст гідроген сульфїду та метаболїтів нїтроген монооксиду в СОШ щурїв ($M \pm m$, $n = 7$)

№ з/п	Групи щурїв	H ₂ S, нмоль/мг протеїна	NO ₂ ⁻ +NO ₃ ⁻ , нмоль/г тканини
1	Інтактні	1,68 ± 0,08	2,14 ± 0,13
2	Мелоксикам	1,39 ± 0,06 *	1,70 ± 0,15 *
2	Сполука NI-9	1,74 ± 0,09 #	2,20 ± 0,17 #

Примїтки:

1. * - $p < 0,05$ вїдносно їнтактних тварин;
2. # - $p < 0,05$ мїж групами, якї отримували мелоксикам та сполуку NI-9

Встановлено, що нове похїдне бензотїазин-3-карбонової кислоти не мало пригнїчувального впливу на вміст H₂S в СОШ, а навпаки, проявило невїрогїдну тенденцїю до збїльшення його вмісту (на 3,57 %) в порївнянні з контролем. Водночас мелоксикам вїрогїдно (на 17,3 %) зменшував вміст цього вазодилататора в слизовїй шлунку.

5.3. Дослїдження впливу сполуки NI-9 на скоротливїсть мезентерїальних артерїй щурїв

Данї лїтератури [300] свїдчать, що в молекулярних механїзмах, якї детермїнують НПЗЗ-їндуковану гастропатїю, поряд їз дисбалансом ендогенної продукцїї простагландинїв, оксиду азоту та гїдроген сульфїду, що синтезуються в слизовїй оболонцї шлунку, важливе мїсце займає порушення чутливостї судин до дїї природних вазорелаксуючих молекул.

Тому надалї в дослїдженнях *in vitro* ми оцїнили змїни чутливостї їзольованих фрагментїв мезентерїальних артерїй щурїв, яким вводили сполуку NI-9 та мелоксикам до судинорозслаблюючої дїї гїдроген сульфїду.

Результати показали, що обидві сполуки порушували здатність ізольованих фрагментів мезентеріальних артерій щурів, передскорочених фенілефрином до зменшення ізометричного напруження в присутності донору гідроген сульфіді $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ в діапазоні концентрацій 10^{-6} - 10^{-2} М (рис. 5.2). При цьому у групі щурів, які 28 днів отримували сполуку NI-9, ці порушення були менш виразними, ніж на тлі дії мелоксикаму, про що свідчить менше зміщення кривих «доза-ефект» праворуч, ніж у тварин, яким вводили похідне карбоксаміду (див. рис. 5.2).

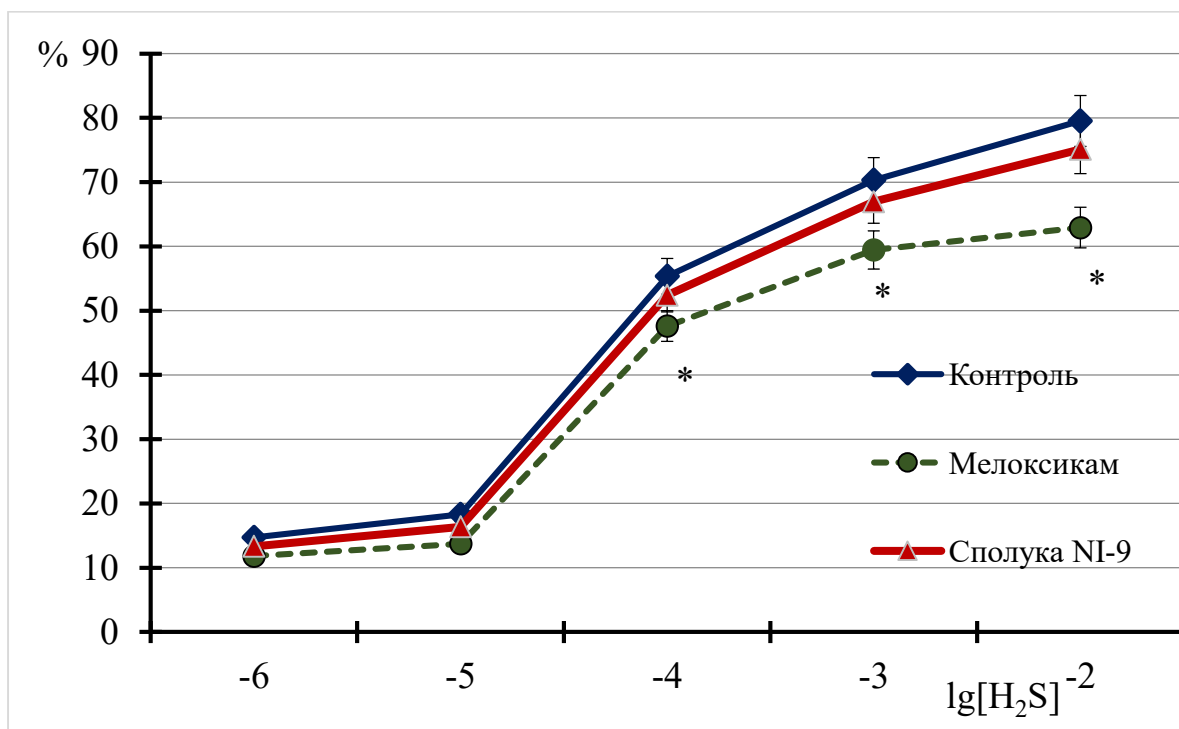


Рис. 5.2 Вплив сполуки NI-9 та мелоксикаму на дозозалежність H_2S -стимульованого розслаблення мезентеріальних артерій щурів ($n = 5$). По осі абсцис – десятковий логарифм концентрації H_2S (М) у суперфузійному розчині, по осі ординат – нормована інтенсивність розслаблення кільцевих фрагментів досліджуваних судин під впливом зростаючих концентрацій H_2S . За 100% прийнятий рівень H_2S -стимульованого розслаблення досліджуваних кільцевих фрагментів судин, який по амплітуді відповідає максимальному значенню фенілефрин-індукованого передскорочення. Наведені усереднені дані 5 дослідів і значення похибок середнього. Примітка. * - $p < 0,05$ відносно контролю.

Порівняння динаміки змін EC_{50} H_2S досліджуваних судин у тварин (рис. 5.3) показало, що у сполука NI-9 викликала недостовірне підвищення EC_{50} H_2S (на 8,10%), натомість мелоксикам викликав збільшення ефективної релаксуючої концентрації мезентеріальної судини на 21,2 % ($p < 0,05$).

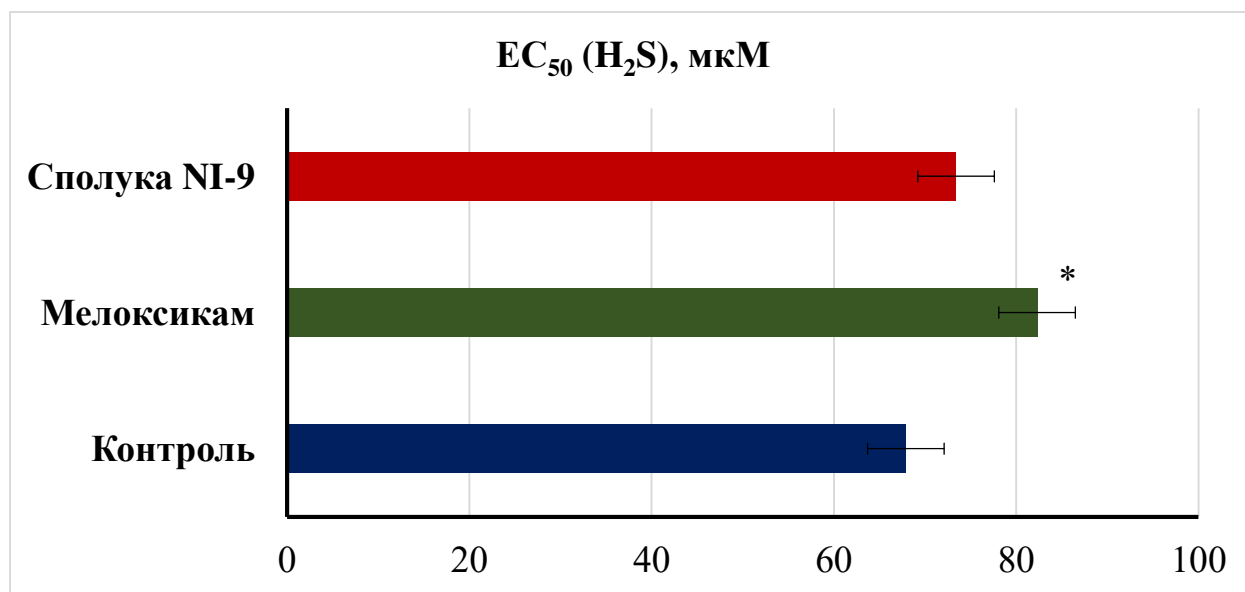


Рис. 5.3 Вплив сполуки NI-9 та мелоксикаму на зміни EC_{50} H_2S в мезентеріальній артерії щурів ($n = 5$). Примітка. * - $p < 0,05$ відносно контролю.

Висновок до розділу 5.

Отримані дані свідчать, що сполука N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти має високий ступінь безпечності щодо ШКТ, за яким перевершує референс-препарат мелоксикам. 28-дення одноразове введення цієї сполуки щурам без модельної патології, як і селективного інгібітора ЦОГ-2 мелоксикаму, викликало незначні макроскопічні ознаки ураження шлунка, однак за показниками множинності і важкості виразкування похідне 4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти було вірогідно на 54,2%, та 30,8 % меншим, ніж референс-препарат ($p < 0,05$).

Молекулярні механізми пошкоджуючого впливу обох сполук включали депримууючий вплив на всі рівні захисту СОШ, а саме, зменшення продукції

ГАГ, порушення фосфоліпідного шару СОШ, активація оксидативного стресу в слизовій шлунка, а головне, зменшення продукції вазодилатуючих молекул (простагландинів, нітроген монооксиду та гідроген сульфїду). Зменшення вмісту в СОШ ГАГ, зростання вмісту МДА та КГП у тварин на тлі введення сполуки NI-9 були достовірно меншими, ніж на тлі дії мелоксикаму. Порушення фосфоліпідного спектру СОШ не мали вірогідної різниці для обох сполук, а вміст нітратів і нітритів та H_2S після тривалого введення мелоксикаму вірогідно знижувався. В той же час після введення щурам сполуки NI-9 вміст нітратів та нітритів практично не змінювався, а рівень гідроген сульфїду навіть показав тенденцію до зростання.

Хронічне введення сполуки NI-9, як і мелоксикаму, викликало зменшення чутливості мезентеріальних артерії до вазорелаксуючої дії H_2S . У тварин, яким 28 днів вводили сполуку NI-9, відбувалось менш виразне зміщення кривої «доза-ефект» праворуч, а підвищення EC_{50} (H_2S) було недостовірним (8,10 %, $p > 0,05$). Референс-препарат мелоксикам викликав більш суттєве зміщення кривої «доза-ефект» праворуч, а EC_{50} (H_2S) вірогідно зростала (на 21,2 %, $p < 0,05$).

Ці результати доповнюють дані щодо фармакодинаміки похідного 4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти та обумовлюють доцільність його подальших досліджень як потенційного НПЗЗ.

Результати, отримані в цьому розділі, викладені в наступних публікаціях: [202].

РОЗДІЛ 6

ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕЯКИХ МЕХАНІЗМІВ АНАЛГЕЗУЮЧОЇ ДІЇ N-(4-МЕТОКСИБЕНЗИЛ)-4-МЕТИЛ-2,2-ДІКСО-1*H*-2 λ⁶,1-БЕНЗОТІАЗИН-3-КАРБОНОВОЇ КИСЛОТИ (СПОЛУКИ NI-9)

Згідно даних, які отримані в попередніх розділів, скринінгові дослідження похідних 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонОВОЇ кислоти довели у похідного цього класу наявність речовин із виразною знеболюючою та протизапальною активностями, а сполука з лабораторним шифром NI-9 продемонструвала високий ступінь аналгетичної активності на різних експериментальних моделях больових синдромів, за якою вона перевершувала препарат порівняння мелоксикам, а подекуди була більш активною, ніж еталонний НПЗЗ диклофенак. Згідно даних докінг-аналізу, N-(4-Метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонОВОЇ кислоти має високий афінитет щодо ЦОГ-2, що дозволяє вважати її потенційним кандидатом в групу НПЗЗ, селективним інгібітором ЦОГ-2. Однак, згідно літературних даних, антиноціцептивна дія реалізується не лише через антипростагландинОВИЙ шлях, але і за участі інших нейрохімічних впливів (розділ 1.2).

Метою цього розділу стало експериментальне дослідження механізмів аналгетичної активності сполуки N-(4-Метоксибензил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонОВОЇ кислоти за допомогою фармакологічних аналізаторів. В якості експериментальної моделі було обрано тест відсмикування хвоста від сфокусованого променю світла («tail-flick»). Детальний опис цього методу наведено в розділі 2.

Оцінювали вихідні показники тривалості ЛП та його динаміку через 1, 2, 3 та 4 год після введення досліджуваної сполуки окремо або на тлі попереднього введення фармакологічних аналізаторів – препаратів, мають агоністичний або антагоністичний вплив на різні рецептори, що залучені до розвитку больової перцепції: налоксон (1 мг/кг в/оч), налбуфін (0,5 мг/кг в/оч), клонідин (0,1 мг/кг

в/оч), йохімбін (5 мг/кг в/шл,) фенілефрин (1 мг/кг в/оч), празозин (1 мг/кг в/оч), ізопреналін (85 мг/кг п/шк), пропранолол (5 мг/кг в/оч) хлорпромазин (2 мг/кг в/оч), наком (24 мг/кг в/шл), діазепам (3 мг/кг в/оч), флумазеніл (1 мг/кг), мемантин (20 мг/кг в/оч) [14]. Фармакологічні аналізатори вводили за 30-60 хв перед введенням сполуки NI-9, яку вводили одноразово в/шл в умовно-ефективній антиноціцептивній дозі (ED₅₀), яка становила 3 мг/кг. Тварини контрольної групи отримували еквіоб'ємні кількості розчинників.

Згідно методичних рекомендації з доклінічного дослідження лікарських засобів з аналгетичною активністю, обов'язковим етапом є встановлення наявності центрального компонента в механізмах дії сполуки. Тому на першому етапі ми оцінили залученість опіоїдергічної системи в аналгетичну дію NI-9 [54]. Результати показали, що на тлі попереднього введення антагоніста опіоїдних рецепторів налоксону антиноціцептивний ефект сполуки NI-9 практично не змінився протягом всіх термінів дослідження (табл. 6.1 та рис. 6.1). На противагу цьому, попереднє введення налоксону суттєво зменшувало фармакологічний ефект агоніста мю- та капа-опіоїдних рецепторів налбуфіну: величина латентного періоду больової реакції була відповідно в 2,4, 2,2, 1,7 та 2,4 рази меншою, ніж за самостійного введення цього препарату ($p < 0,05$).

Таблиця 6.1

Участь опіоїдергічної системи в аналгетичній активності сполуки NI-9

($M \pm m, n = 7$)

Сполуки	Латентний період відсмикування хвоста				
	Вихідне значення, с	Після введення сполуки			
		1 год	2 год	3 год	4 год
1	2	3	4	5	6
NI-9	8,20 ± 0,56	10,5 ± 0,64 *	12,6 ± 0,78 *	11,3 ± 0,75 *	10,1 ± 0,71*

Продовження таблиці 6.1

1	2	3	4	5	6
---	---	---	---	---	---

Налоксон + NI-9	8,02 ± 0,47	10,2 ± 0,53 *	12,3 ± 0,68 *	10,5 ± 0,54 *	9,30 ± 0,36 *
Налбуфін	6,86 ± 0,51	10,2 ± 0,69 *	11,9 ± 0,77 *	10,7 ± 0,72 *	8,89 ± 0,73 *
Налоксон + Налбуфін	8,86 ± 0,21	10,8 ± 0,35 *#	11,9 ± 0,29 *#	10,9 ± 0,38 *#	9,71 ± 0,24 #

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно вихідного рівня;
2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) щодо монотерапії

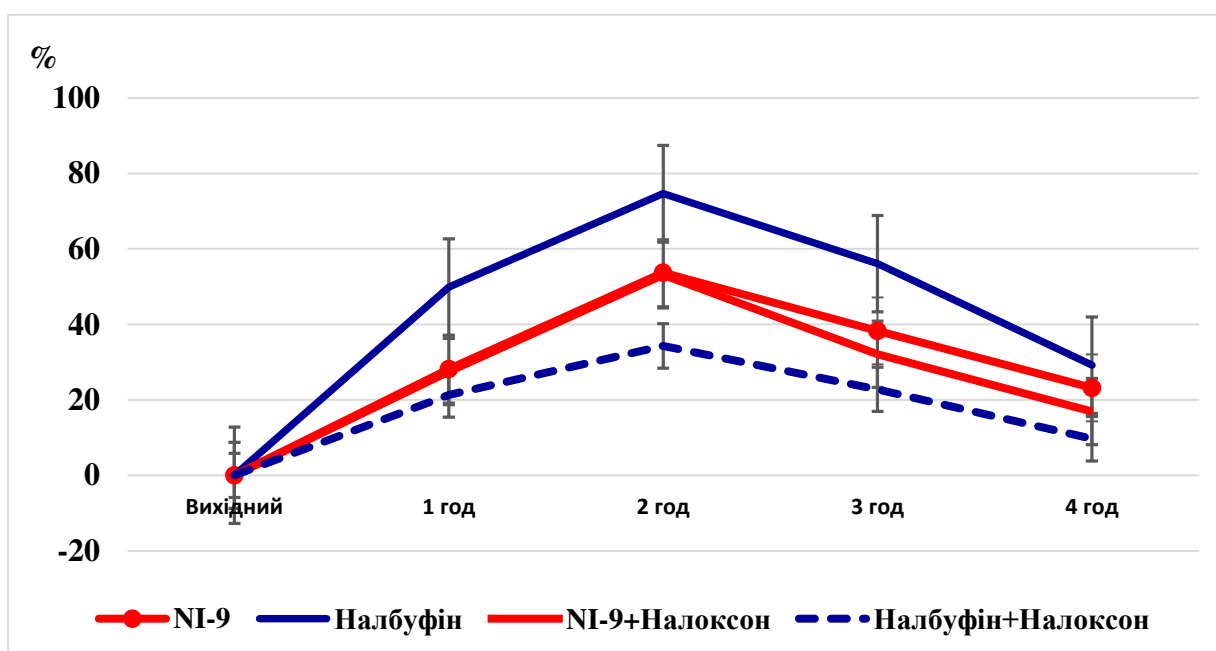


Рис. 6.1 Зміни латентного періоду відсмикування хвоста (% відносно вихідного значення) на тлі дії сполуки NI-9, налбуфіну та їх комбінацій з налоксоном ($M \pm m$, $n = 7$).

Наші дослідження продемонстрували, що в механізмах дії ПК-66 залучена адренергічна система. В якості фармакологічних аналізаторів, які дозволяють оцінити вплив альфа-адренорецепторів, було обрано альфа1-адреноміметик фенілефрин, альфа2-адреноміметик клонідин, альфа1-адреноблокатор празозин та альфа2-адреноблокатор йохімбін (табл.6.2).

Участь адренергічної системи в анальгетичній активності сполуки NI-9

(M ± m, n = 7)

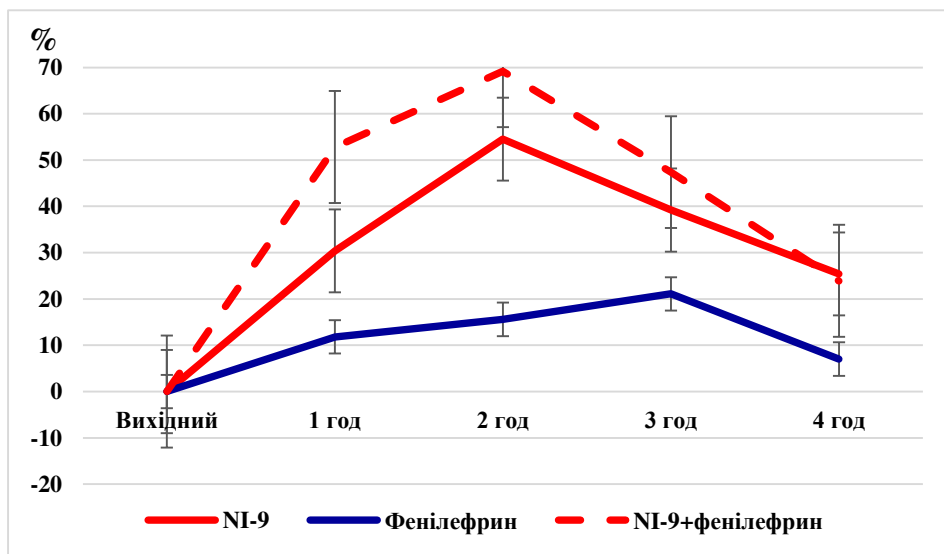
Сполуки	Латентний період відсмикування хвоста				
	Вихідне значення, с	% змін відносно вихідного рівня			
		1 год	2 год	3 год	4 год
NI-9	7,33 ± 0,54	9,49 ± 0,72 *	11,4 ± 0,96 *	10,2 ± 0,77 *	9,10 ± 0,56 *
Клонідин	7,67 ± 0,65	10,2 ± 0,87 *	11,1 ± 1,05 *	12,5 ± 1,39 *	9,09 ± 0,73 *
NI-9 + Клонідин	11,5 ± 0,30	16,3 ± 0,46 **	19,1 ± 0,62 **	18,5 ± 0,44 **	16,2 ± 0,28 **
Йохімбін	6,03 ± 0,22	6,64 ± 0,17	6,88 ± 0,22 *	6,86 ± 0,17 *	6,65 ± 0,19
NI-9 + Йохімбін	5,57 ± 0,32	6,45 ± 0,32 **	6,66 ± 0,28 **	7,04 ± 0,18 **	6,82 ± 0,19 *
Фенілефрин	7,37 ± 0,15	8,23 ± 0,20 *	8,52 ± 0,27 *	8,93 ± 0,25 *	7,88 ± 0,18
NI-9 + Фенілефрин	7,44 ± 0,42	11,3 ± 0,47 **	12,6 ± 0,68 **	10,9 ± 0,65 **	9,16 ± 0,48 *
Празозин	7,73 ± 0,28	8,12 ± 0,34	8,49 ± 0,37	8,38 ± 0,35	8,32 ± 0,35
NI-9 + Празозин	7,42 ± 0,34	10,1 ± 0,53 *	10,6 ± 0,49 **	9,86 ± 0,43 *	9,06 ± 0,50 *
Ізопреналін	7,75 ± 0,24	8,08 ± 0,25	8,32 ± 0,30	8,18 ± 0,24	7,90 ± 0,24
NI-9 + Ізопреналін	8,00 ± 0,39	9,99 ± 0,56 *	11,4 ± 0,49 **	10,95 ± 0,50 **	8,93 ± 0,57 **
Пропранолол	7,26 ± 0,43	8,82 ± 0,38 *	9,07 ± 0,37 *	8,20 ± 0,32 *	7,56 ± 0,40
NI-9 + Пропранолол	7,81 ± 0,30	11,5 ± 0,72 **	12,3 ± 0,54 **	11,3 ± 0,51 *	9,76 ± 0,41 *

Примітки:

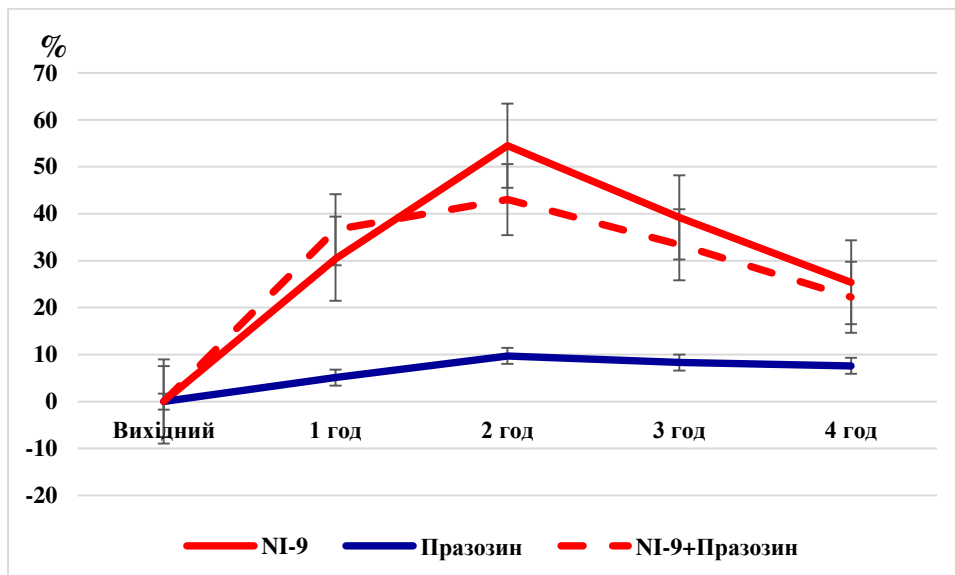
1. * - статистично вірогідні відмінності (p < 0,05) відносно вихідного рівня;

- статистично вірогідні відмінності (p < 0,05) щодо монотерапії сполукою NI-

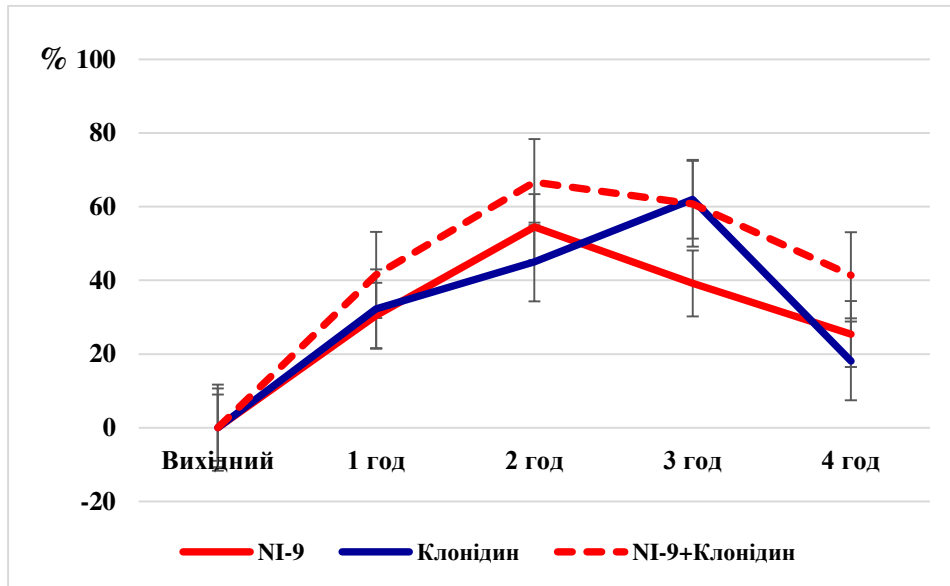
Результати показали, що монотерапія сполукою NI-9 викликала вірогідне збільшення ЛП відсмокування хвоста щурів в середньому на 30,4, 54,4 39,2 та 25,4 % ($p < 0,05$), відповідно на 1, 2, 3 та 4-ту год експерименту. Альфа1-адреноміметик фенілефрин виявляв незначну аналгетичну дію, на тлі його введення ЛП зростав на 12-21 %, а на 4 год експерименту повертався до вихідного рівня (рис. 6.2 А). Сумісне введення цих препаратів викликало аналгетичну дію, яка практично являла собою сумачію аналгетичних ефектів обох речовин.



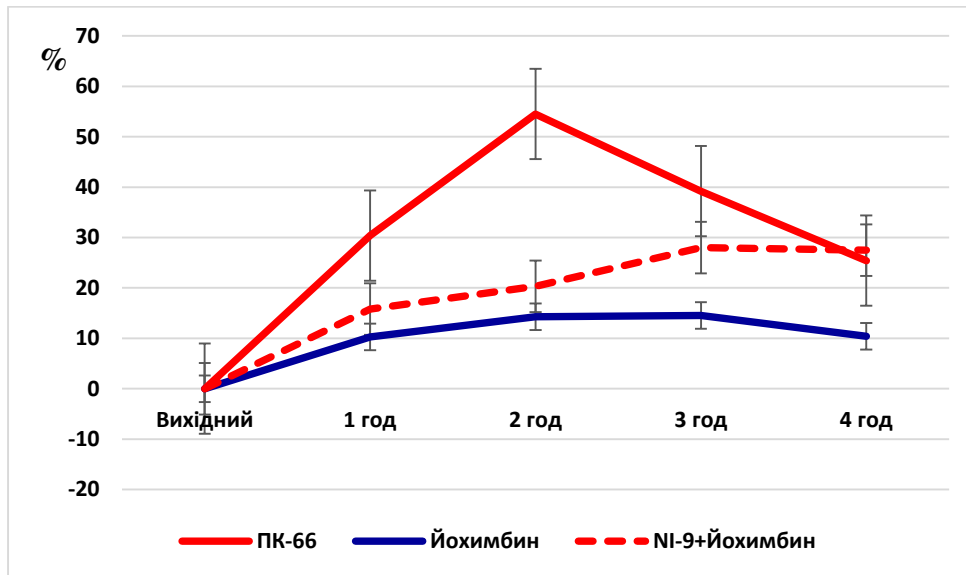
А



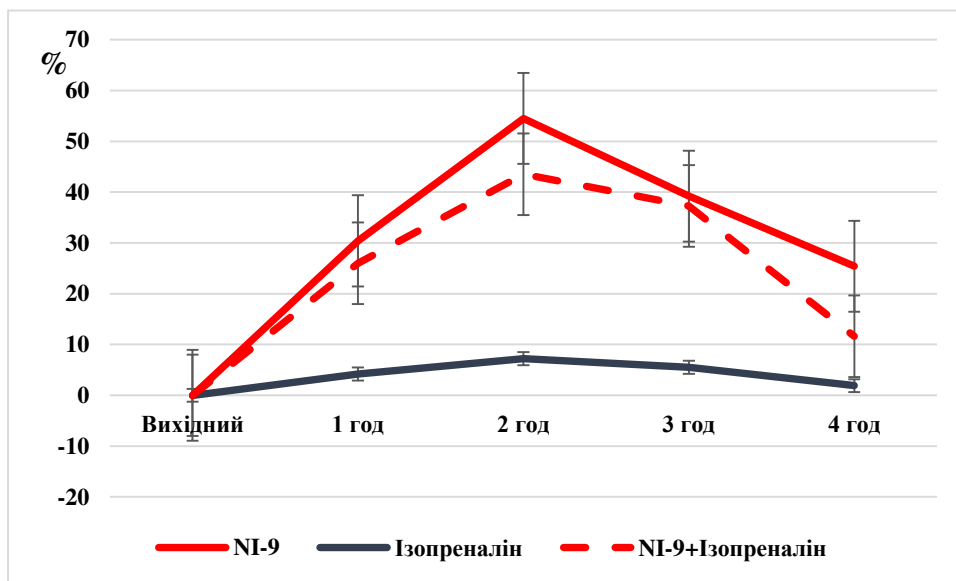
Б



В



Г



Д

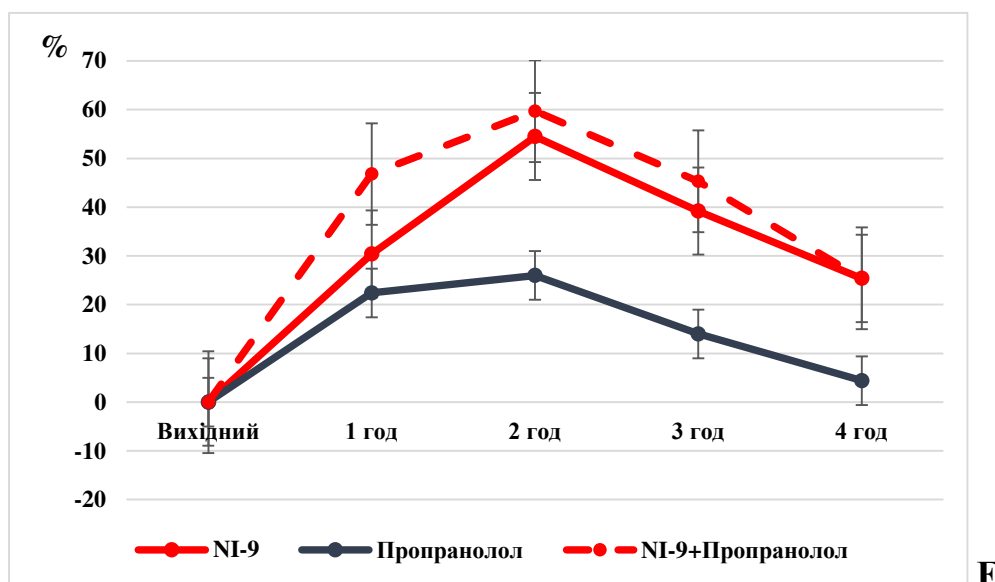


Рис. 6.2 Зміни латентного періоду відсмикування хвоста (% відносно вихідного значення) на тлі дії сполуки NI-9, модуляторів адренергічної системи та їх комбінацій ($M \pm m$, $n = 7$).

На тлі введення альфа1-адреноблокатора празозину антиноцицептивна дія сполуки NI-9 зменшувалась, і на 2, 3 та 4-й год дослідження ЛП перевищував вихідний показник на 43,0, 33,4 та 22,2 %, що було меншим за такі показники похідного карбоксаміду, проте статистично вірогідних значень ця різниця сягала лише на 2-й год (див. рис. 6.2 Б.).

Аналіз участі альфа2-адренорецепторів в антиноцицептивній дії сполуки, що досліджувалась, продемонстрував незначене посилення ефектів після попереднього введення клонідину на 1-й та 2-й год (різниця між ЛП за монотерапії NI-9 та її комбінуванням з клонідином становила 11,1 та 12,3 %, відповідно), на 3-й год сумарний ефект не відрізнявся від такого у клонідину, і лише на 4-ту годину після їх сумісного застосування зниження ЛП було меншим, ніж кожного з цих компонентів окремо. Більш показові результати були отримані при аналізі взаємодії NI-9 та блокатора альфа2-адренорецепторів йохімбіну. Виявлено, що цей препарат зменшує знеболюючу дію похідного карбоксаміду (див. рис. 6.2 В, Г). Підвищення ЛП в цій комбінації

становило 15,8, 20,3, 27,9 та 23,9 %, відповідно на 1, 2, 3 та 4-ту години, що було статистично вірогідно меншим, ніж за умов окремого введення сполуки NI-9.

Участь бета-адренорецепторів в реалізації фармакологічної активності цієї сполуки вивчали за допомогою неселективного бета-адреноміметика ізопреналіну та неселективного бета-адреноблокатора пропранололу (див. рис. 6.2 Д). Результати показали, що ізопреналін практично не впливав на аналгетичну дію NI-9, хоча на 2-й та 4-й год ефект сполуки на тлі бета-міметика був меншим, ніж за моно введення. Блокада цих рецепторів пропранололом викликала статистичне підвищення тривалості ЛП у щурів, яким ввели сполуку NI-9 на 46,8 % порівняно з вихідним рівнем, що було більшим за аналогічний показник окремо взятої сполуки (30,42 %), проте цей ефект був меншим навіть за просту суму ефектів двох речовин (рис. 6.2. Е). В решту термінів дослідження аналгетичний ефект похідного карбоксаміду практично не змінювався.

Наукові дані переконливо свідчать про участь дофамінергічної системи в процесах проведення болю та знеболенні [7]. Тому на наступному етапі ми дослідили зміни ефекту сполуки NI-9 на тлі попереднього введення препарату наком, який підвищує вміст дофаміну в організмі, а також антагоністу дофамінових D_2 рецепторів – хлорпромазину (табл. 6.3).

Згідно отриманих результатів, видно, що введення хлорпромазину викликало статистично вірогідне зменшення знеболюючої дії сполуки в усі терміни дослідження (збільшення ЛП відсемикування хвоста збільшувалось лише на 18,4, 30,0, 30,5 та 13,8 %, що було в 1,52, 1,79, 1,25 та 1,70 рази меншим, порівняно аналогічними показниками монотерапії NI-9 ($p < 0,05$). Натомість введення накому – посилювало аналгетичну дію, особливо на 1-й та 2-й год після введення (в 1,67 та 1,44 рази) (рис. 6.3 А, Б).

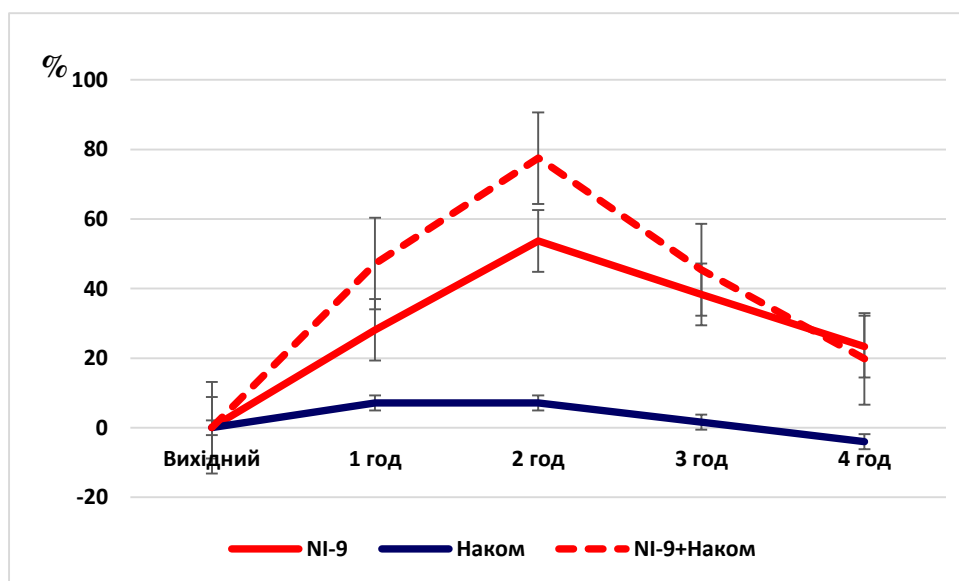
Участь дофамінергічної системи в аналгетичній активності сполуки NI-9

(M ± m, n = 7)

Сполуки	Латентний період відсмикування хвоста				
	Вихідне значення, с	% змін відносно вихідного рівня			
		1 год	2 год	3 год	4 год
Дофамінергічна система					
NI-9	8,20 ± 0,56	10,5 ± 0,64*	12,6 ± 0,78*	11,3 ± 0,75*	10,11 ± 0,71*
Наком	6,77 ± 0,41	7,44 ± 0,39	7,44 ± 0,39	6,89 ± 0,43	6,50 ± 0,41
NI-9 + Наком	7,50 ± 0,26	11,1 ± 0,42*#	13,3 ± 0,51*#	10,9 ± 0,31*#	8,99 ± 0,32*
Хлорпромазин	7,16 ± 0,16	9,39 ± 0,28*	10,6 ± 0,31*	9,10 ± 0,22*	9,32 ± 0,35*
NI-9 + Хлорпромазин	8,20 ± 0,56	9,63 ± 0,49*#	10,6 ± 0,50*#	10,7 ± 0,73*	9,29 ± 0,57#

Примітки:

- * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно вихідного рівня;
- # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) щодо монотерапії сполукою NI-9



A

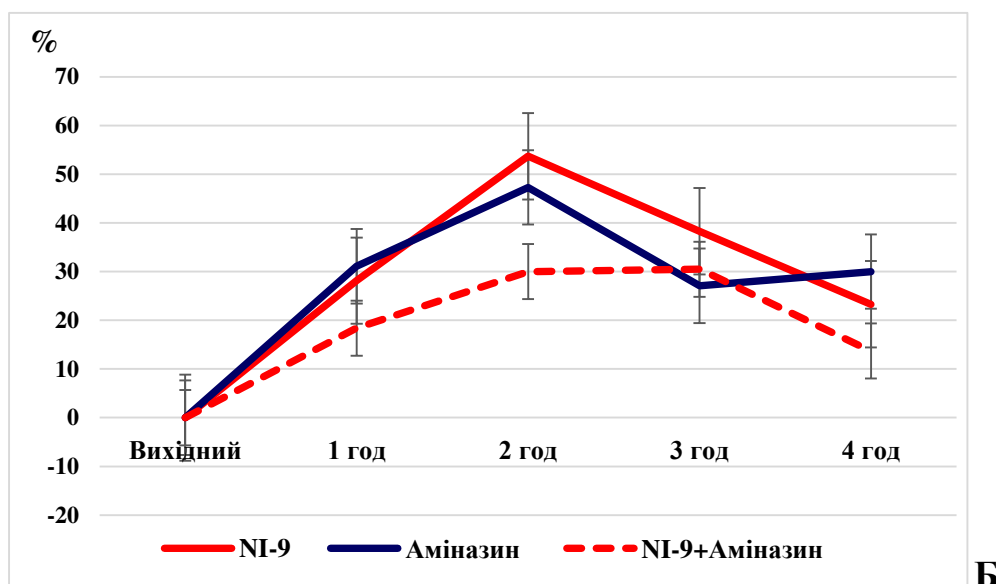


Рис. 6.3 Зміни латентного періоду відсмикування хвоста (% відносно вихідного значення) на тлі дії сполуки NI-9, модуляторів дофамінергічної системи та їх комбінацій ($M \pm m$, $n = 7$).

Для оцінки залученості холінергічної системи в аналгетичній активності сполуки NI-9 було обрано специфічний антагоніст холінергічних рецепторів ніфедипін (табл. 6.4).

Таблиця 6.4

Участь холінергічної системи в аналгетичній активності сполуки NI-9
($M \pm m$, $n = 7$)

Сполуки	Латентний період відсмикування хвоста				
	Вихідне значення, с	% змін відносно вихідного рівня			
		1 год	2 год	3 год	4 год
Холінергічна система					
NI-9	$7,97 \pm 0,25$	$10,2 \pm 0,31^*$	$12,6 \pm 0,74^*$	$11,4 \pm 0,67^*$	$10,3 \pm 0,65^*$
Ніфедипін	$7,60 \pm 0,44$	$8,54 \pm 0,57$	$9,37 \pm 0,37$	$9,56 \pm 0,49$	$8,12 \pm 0,48$
NI-9 + Ніфедипін	$7,65 \pm 0,62$	$9,92 \pm 0,75^*$	$10,5 \pm 0,70^{*#}$	$9,69 \pm 0,70^{*#}$	$8,38 \pm 0,66^*$

Примітки:

- * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно вихідного рівня;
- # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) щодо монотерапії сполукою NI-9

Дані, які були одержані в результаті дослідження свідчать, що на тлі введення антагоніста холінергічних рецепторів ніфедипіна, аналгетична дія сполуки NI-9 спочатку не зазнала змін (на першій годині), але починаючи з 2-ї год експерименту, аналгетична дія комбінації прогресивно знижувалась: підвищення ЛП больової реакції у щурів становило 37,7, 27,6 та 9,80 %, відповідно на 2-й, 3-й та 4-й год (рис. 6.4). Фактично на 3-й та 4-й год після введення ці показники не відрізнялись від дії ніфедипіну, що безперечно є доказом ролі холінорецепторів в механізмах дії похідного карбоксаміду.

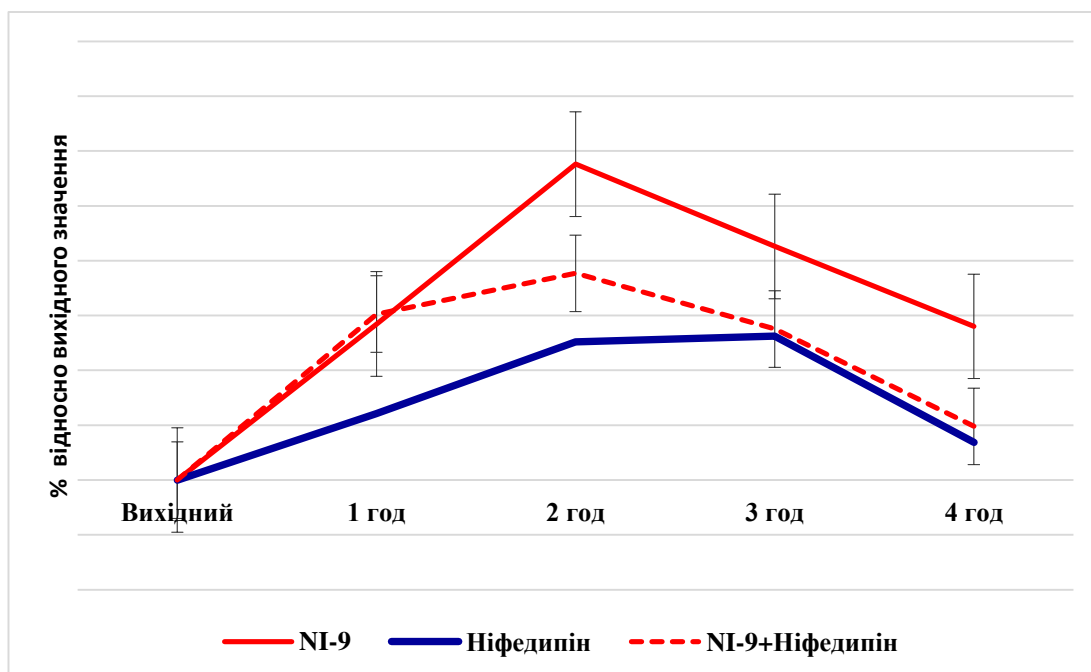


Рис. 6.4 Зміни латентного періоду відсмикування хвоста (% відносно вихідного значення) на тлі дії сполуки NI-9, модуляторів холінергічної системи та їх комбінацій ($M \pm m$, $n = 7$).

Дослідження участі ГАМК-ергічної системи в механізмі дії сполуки NI-9 проводили за допомогою діазепаму та флумазенілу, вплив на NMDA рецептори оцінювали за допомогою мемантину (табл. 6.5).

Участь нейроамінокислот в анальгетичній активності сполуки NI-9

(M ± m, n = 7)

Сполуки	Латентний період відсмикування хвоста				
	Вихідне значення, с	% змін відносно вихідного рівня			
		1 год	2 год	3 год	4 год
ГАМК-ергічна система					
NI-9	8,20 ± 0,56	10,5 ± 0,64*	12,6 ± 0,78*	11,3 ± 0,75*	10,11 ± 0,71*
Діазепам	7,19 ± 0,53	8,63 ± 0,56*	9,93 ± 0,66*	9,46 ± 0,54*	8,34 ± 0,48*
NI-9 + Діазепам	7,40 ± 0,59	9,74 ± 0,79*	11,8 ± 0,73*	10,81 ± 0,86*#	10,0 ± 0,75*#
Флумазеніл	6,19 ± 0,34	6,41 ± 0,33	6,78 ± 0,32	6,60 ± 0,30	6,35 ± 0,35
NI-9 + Флумазеніл	7,22 ± 0,45	9,41 ± 0,60*	11,1 ± 0,55*	9,32 ± 0,51*	8,51 ± 0,42*
NMDA-рецептори					
NI-9	8,20 ± 0,56	10,5 ± 0,64*	12,6 ± 0,78*	11,3 ± 0,75*	10,1 ± 0,71*
Мемантин	8,66 ± 0,96	10,3 ± 0,25*	12,2 ± 0,12*	11,6 ± 0,19*	9,90 ± 0,10*
NI-9 + Мемантин	7,89 ± 0,62	9,57 ± 0,76*	9,91 ± 0,85*#	9,47 ± 0,84*#	8,98 ± 0,73*#

Примітки:

- * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно вихідного рівня;
- # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) щодо монотерапії сполукою NI-9

Результати показали, що на тлі введення агоніста бензодіазепінових рецепторів діазепаму, який також активує ГАМК-ергічні впливи в організмі, підвищення ЛП больової реакції у щурів становило 31,6, 61,0, 46,9 та 36,1 %, відповідно на 1-й, 2-й, 3-й та 4-й год (рис. 6.5 А). Ці показники лише на останніх двох термінах перевищували такі при монотерапії сполукою, що вивчалась, очевидно, за рахунок загальної седативної дії препарату. Введення антагоністу

бензодіазепінових рецепторів флумазенілу перед введенням похідного крабоксаміду практично не змінювало досліджуваних показників, за винятком пізніх термінів експерименту (див. рис. 6.5 Б).

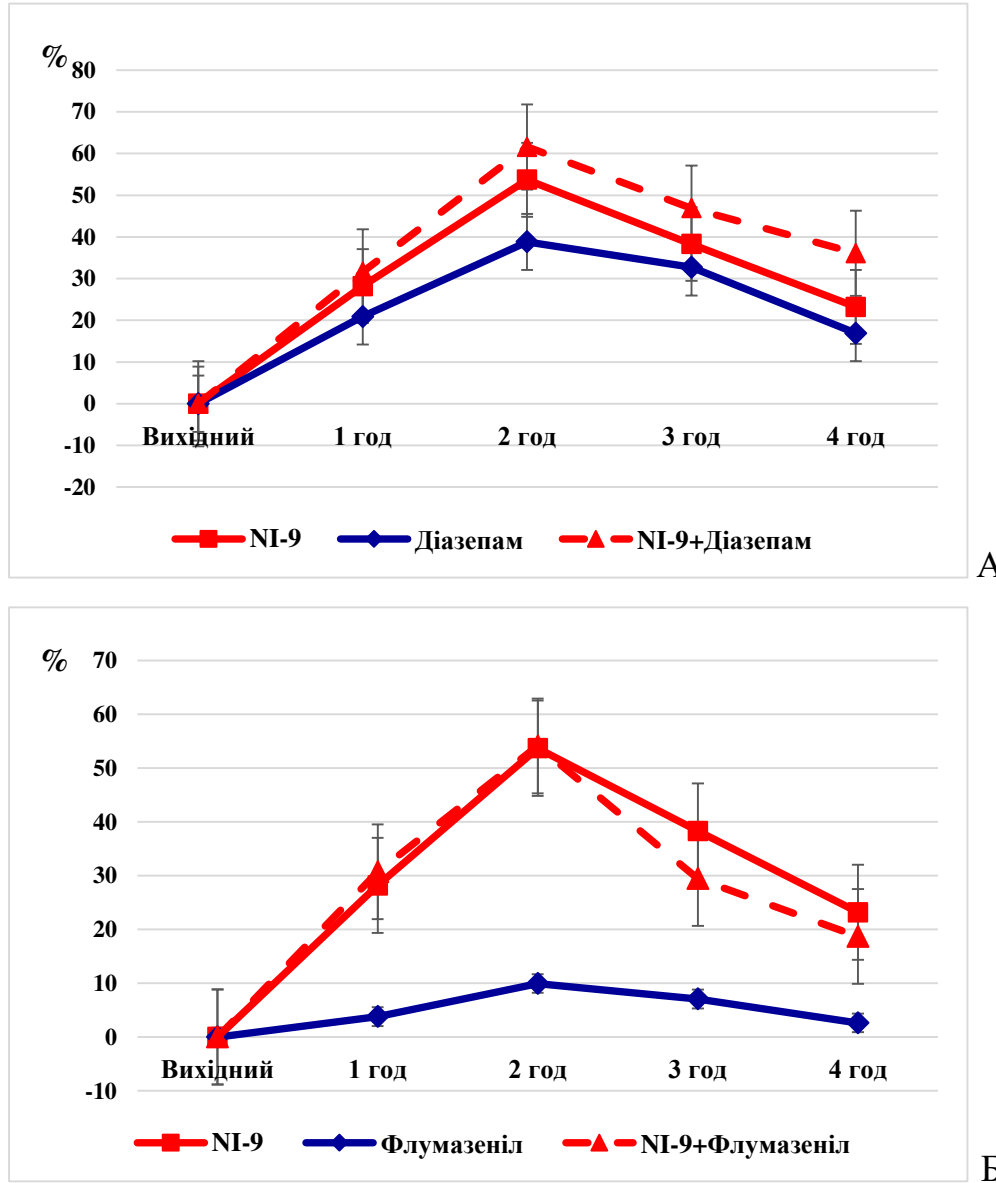


Рис. 6.5 Зміни латентного періоду відсмикування хвоста (% відносно вихідного значення) на тлі дії сполуки NI-9, модуляторів ГАМК-ергічної системи та їх комбінацій ($M \pm m$, $n = 7$).

Залученість до аналгетичної дії 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду NMDA-рецепторів ми визначали за допомогою їх модулятора мемантину (див. табл. 6.5). Згідно отриманих даних, сумісне застосування

мемантину та NI-9 викликало вірогідне ($p < 0,05$) збільшення ПБЧ порівняно з вихідним рівнем на 21,4, 25,4, 19,6 та 14,1 %, відповідно, однак ці показники були статистично меншими, ніж за умов моноведення сполуки NI-9 (рис. 6.6). Отримані дані свідчать, анальгетична дія цієї сполуки реалізується за участі впливу на систему збуджуючих нейроамінокислот, однак для остаточного визначення ступеню залученості NMDA-рецепторів необхідні більше детальні дослідження.

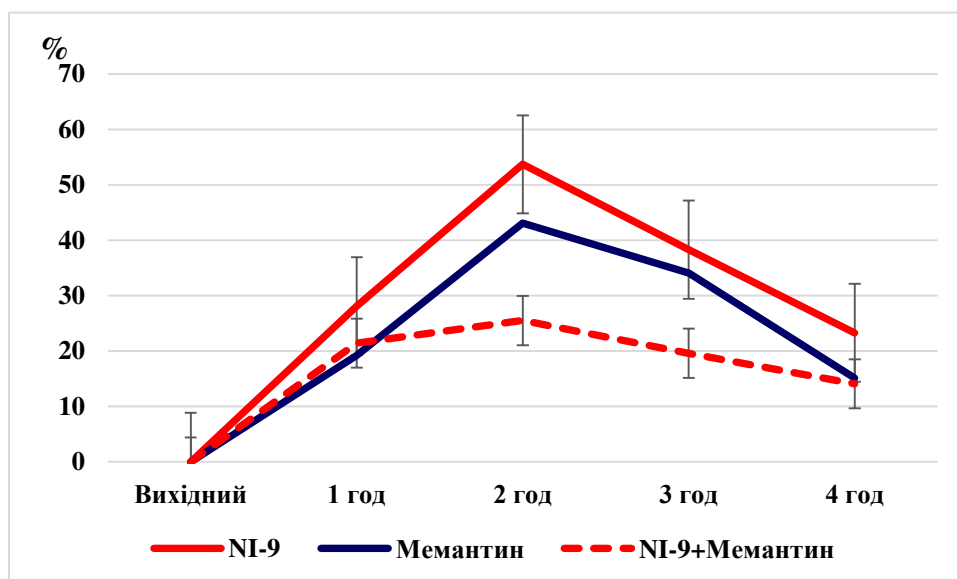


Рис. 6.6 Зміни латентного періоду відсмикування хвоста (% відносно вихідного значення) на тлі дії сполуки NI-9, модулятора NMDA-рецепторів та їх комбінацій ($M \pm m$, $n = 7$).

Висновок до розділу 6.

Таким чином, результати показали, що в антиноцицептивному ефекті нового похідного 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду з лабораторним шифром NI-9, не залучена опіоїддергічна система, оскільки попереднє введення повного антагоніста опіоїдних рецепторів налоксону практично не впливало на анальгетичну дію цієї сполуки.

Натомість доведена участь альфа1- та альфа2-адренорецепторів, оскільки блокатор альфа1-адренорецепторів празозин статистично вірогідно зменшував антиноцицептивний ефект NI-9 на 2-й год експерименту на 20,9 % ($p < 0,05$). Стимулятор центральних альфа2-адренорецепторів клонідин

посилював дію сполуки за рахунок власних ефектів, тоді як блокатор цих рецепторів йохімбін суттєво зменшував ефект похідного карбоксаміду на 1-й та 2-й год дослідження на 66,0, та 62,6 % ($p < 0,5$), дещо менше – на 28,7 % ($p < 0,05$) на 3-й год, і практично не впливав на аналгетичну дію на 4-й год дослідження.

Згідно отриманих даних, до механізмів антиноцицептивної дії сполуки NI-9 не залучені бета-адренорецептори, оскільки ні агоніст (ізопротеренол), ані блокатор (пропранолол) суттєво не змінювали її ефекту. Не було також отримано переконливих даних щодо участі ГАМК-ергічної системи в ефектах похідного карбоксаміду, оскільки на тлі дії флумазенілу ефект сполуки практично не змінювався, а комбінація з діазепамом викликала посилення аналгезії на рівні сумації ефектів.

Виявлено, що знеболюючий ефект N-(4-Метоксибензил)-4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду опосередковується через вплив на дофамінергічну систему, про що свідчить зменшення ступеня антиноцицепції за сумісного введення з блокатором дофамінових D₂-рецепторів хлорпромазином в середньому в 1,25-1,79 рази. Доказом участі холінергічної системи та NMDA-рецепторів в механізмах аналгезії є вірогідне зниження, а згодом і нівелювання активності сполуки NI-9 на тлі введення ніфедипіну починаючи з 2-ї год експерименту, а також мемантину в усі терміни дослідження на 23,9, 52,6, 48,8 та 39,7 %, відповідно ($p < 0,05$) у порівнянні з монотерапією сполукою, що досліджувалась.

Результати цього розділу надруковані в наступних працях: [35].

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Незважаючи на найнеприємніші епітети та страх, біль був і залишається нормальною реакцією будь-якого живого організму на сильні фізичні, хімічні або механічні подразники. У ньому найбільш важлива захисна функція в природі – в потрібний момент біль негайно сигналізує про появу екзогенного або ендогенного деструктивного впливу на певний орган [75, 139, 322], а це просто необхідні для виживання організму як біологічної одиниці. Будучи досить складним психофізіологічним явищем біль (особливо сильний і тривалий) часто супроводжується дуже сильними емоційними стресами [122, 212], які можуть швидко виснажувати адаптаційні ресурси організму і викликати серйозні захворювання та порушення його життєдіяльності. Очевидно, саме з цієї причини Міжнародна асоціація за Дослідження болю розглядає біль як глобальний фактор, що викликає проблеми в сучасному суспільстві лише медичного, а й соціально-економічного характеру [147, 251].

Біль різного походження та больові синдроми виникають настільки часто, що важко знайти людину, яка не знає цього почуття. Тому й не дивно, що знеболюючі є одними з найпопулярніших і часто використовуваних препаратів. Лікарський арсенал цієї фармакологічної групи, доступний в сучасній медицині, надзвичайно широкий [Kleemann A., (2008)]. Однак навіть за таких умов відповідне полегшення болю не завжди є успішним. Причиною цього можуть бути побічні ефекти і, як наслідок, численні протипоказання та обмеження для використання цих препаратів [69]. Ось чому життєво важливою задачею фармацевтичної та медичної хімії є пошук нових, вискоелективних і, що особливо важливо, безпечних знеболюючих.

Серед лікарських засобів, які використовують для лікування больових синдромів (так званих «rain killers»), група нестероїдних протизапальних засобів займає провідне місце, перевершуючи за частотою застосування препарати групи опіоїдів та навіть парацетамол. Їхня ефективність зумовлена

багатокомпонентним механізмом дії, який включає в себе антипростагландинову складову, а також цілу низку інших ефектів (антиоксидантний, антибрадикініновий, вплив на систему нітроген монооксиду, гідроген сульфід, іонні канали та ін.). Сукупність позитивних фармакологічних ефектів (знеболюючий, протизапальний, антипіретичний та ін.) поєднуються у цієї групи лікарських препаратів із антиагрегантною дією, здатністю профілакувати онкологічні захворювання тощо. Ці засоби мають багато різних лікарських форм, які роблять їх зручними до застосування, помірну кількість побічних ефектів, привабливий фармакоекономічний профіль.

Важливим та доцільним напрямком в створенні високоефективних аналгетиків є модифікація молекул вже відомих препаратів шляхом біоізостеричної заміни субституентів, що може значно підвищувати ефективність та безпечність нових біологічно активних сполук [268, 284, 293].

В арсеналі сучасних ненаркотичних засобів боротьби з болем важлива роль належить карбоновим кислотам. За хімічною будовою їх можна поділити на декілька груп: похідні саліцилової кислоти, структурно близькі їм антранілові та 2-амінонікотинові кислоти. Особливо важливі аналгетики створені на основі фенілоцтової та 2-фенілпропіонової кислот. Слід зазначити також ряд похідних янтарної, гетарилкарбонових, а також гетарилоцтових кислот.

Дана робота присвячена пошуку перспективних речовин з аналгетичною активністю серед нових оригінальних похідних *N*-арил(гетарил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду, отриманих методами біоізостерної заміни в молекулі оксикамів, визначенню залежності структура-дія, і на цій основі встановленню сполуку-лідера, конкурентноспроможну з сучасними аналогами для створення на її основі нового лікарського засобу із вищезазначеними ефектами.

Основною передумовою для цього дослідження була виявлена виразна знеболююча активність їх синтетичних попередників - метил-4-метил-2,2-

діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксилати [73]), а також відмінні результати, отримані при переході від складних ефірів хінолону, які є подібними за їх структури, до кислот [287]

На першому етапі були проведені скринінгові дослідження анальгезуючої та протизапальної активності широкого спектру похідних 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів із різними замісниками, а також вивчення закономірностей «будова – знеболююча активність» (розділ 3).

Загальна структура 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти представлена на рис. 7.1.

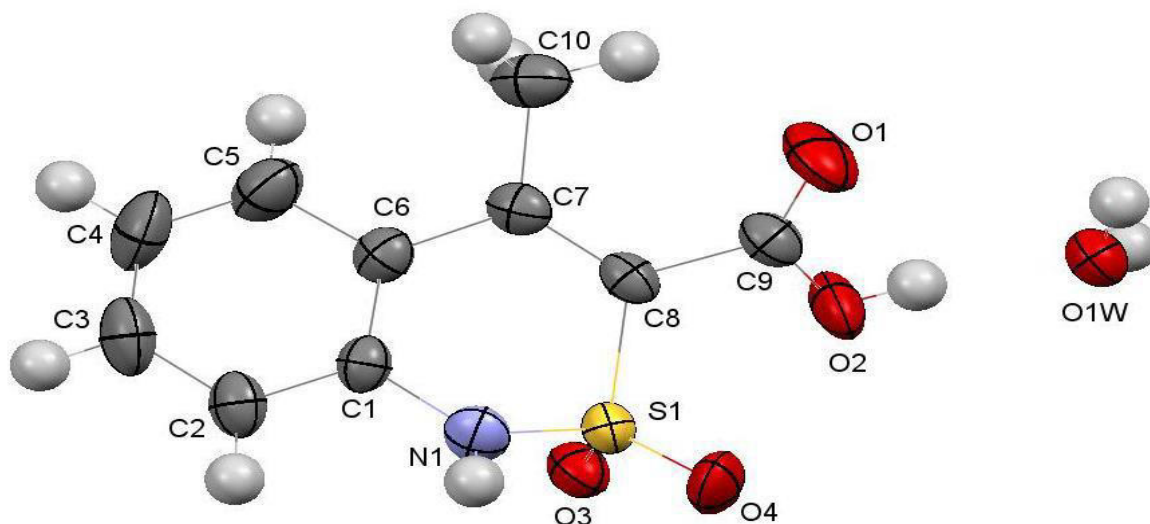


Рис. 7.1. Хімічна будова структура 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти.

Шляхом різних хімічних модифікацій за допомогою методики «flip-flop» були отримані ряди *N*-піридил-, *N*-гетарил(арил)алкіл- та *N*-(1-арилетил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів. Їх хімічна будова була підтверджена за допомогою ядерного магнітного резонансу (ЯМР) та рентгеноструктурного аналізу [286, 289, 290, 291]. Біологічна активність отриманих сполук досліджувалась на скринінговій моделі – карагеніновому набряку задньої кінцівки щурів (субплантарне введення 0,1 мл 1 % розчину

карагеніну). Вибір даної моделі для скринінгових досліджень був зумовлений тим, що досліджувані сполуки відносяться до похідних відомого класу лікарських засобів – НПЗЗ, і саме ця модель дозволила оцінити наявність у них антифлогогенної дії, яка свідчить про ступінь протизапальної активності, а також здатність усувати гіпералгезію, яка виникає на тлі гострої запальної реакції.

Одержані результати показали, що лужний гідроліз метил-4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксилату дозволяє отримати стабільні молекули – 4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонову кислоту та її натрієву сіль, які показали помірну протизапальну активність та виразний знеболюючий ефект (див. розділ 3.1).

В наступній частині роботи (розділ 3.2) аналізуються фармакологічні властивості іншої групи похідних 4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти, а саме ряду нових *N*-піридил-4-гідрокси 2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів як потенційних аналгетиків і протизапальних засобів. Згідно результатів фармакологічних досліджень, які співставлялись із даними рентгеноструктурного аналізу отриманих сполук, було виявлено, що бензотіазиновий цикл у деяких *N*-піридиламідів існує в конформації, яка є нетиповою для сполук цієї групи, коли орієнтація карбонільної та сульфогруп мають різнобічне розташування відносно бензотіазинового біцикла. Всі речовини, представлені в цій групі, показали різний ступінь аналгетичної та протизапальної дії. Порівняльний аналіз молекулярної конформації, упаковки кристалів та біологічних властивостей *N*-піридил-4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів різної спрямованості карбонільної та сульфогруп щодо площини бензотіазинового циклу (сполуки NI-83, NI-85, NI-86) виявив відсутність будь-якого істотного впливу взаємного просторового розташування обох гетероциклічних фрагментів в молекулах досліджуваних сполук на їхню аналгетичну активність. Усі *N*-піридиламіди цієї групи були приблизно однаковими речовинами за силою їх знеболюючого ефекту, хоча ці сполуки дуже значно відрізняються конформаційно та за типом кристалічної упаковки.

Ймовірно, тісний зв'язок з біологічною мішенню і, як наслідок, висока активність забезпечується незвичайною конформацією бензотіазинового біциклу, в якому присутність молекули піридинового ядра в карбамідному фрагменті є більш важливою, ніж її фіксоване положення в кристалі.

Зовсім інша картина спостерігається в групі похідних з односторонньою спрямованістю карбонільної та сульфогруп (сполуки NI-81, NI-87, NI-87), що характерно для багатьох N-R-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів. Існує чіткий взаємозв'язок між рівнем біологічної дії і положенням піридинового ядра в просторі. Кут між площинами двох гетероциклів, що входять до складу молекул – бензотіазину та піридину дуже показовий у цьому плані. Чим він ближчий до 90 (наприклад, піридин-4-іл-амід, сполука NI-81), тим активність нижча.

В ході дослідження було виявлено, що заміна 4-гідрокси групи в N-піридил-4-гідрокси-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідах на метильну групу супроводжується значною перебудовою кристалічної структури, а також появою нових молекулярних конформацій бензотіазинового ядра, які в кінцевому підсумку визначають силу знеболюючої та протизапальної дії досліджуваних речовин. Дві молекули - N-(5-метилпіридин-2-іл)- (сполука NI-87) і N-(піридин-3-іл)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміди (сполука NI-82) перевищували за цими показниками типовий референтний препарат оксикамів – лорноксикам [219].

Подальші хімічні перетворення в результаті реакції між 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти та N,N0-карбонілімідазолу у безводному N,N-диметилформаміді з подальшим амідуванням імідазоліду, дали змогу отримати низку сполук гетарилалкіл- або бензиламінів. Результати скринінгового тестування, проведене на моделі карагенінового запалення, довели, що всі без винятку N-гетарил(арил)алкіл-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміди демонструють статистично значущі знеболюючі та протизапальні властивості (див. розділ 3.3). Серед них є сполуки, які підвищують больовий поріг і пригнічують запальну реакцію більш ефективно,

ніж лорноксикам і диклофенак в тих же дозах. Найбільшу ефективність продемонстрували дві сполуки - N-тіофен-2-ілметил- і N-4-метоксибензил-аміди 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти, які заслуговують більш ретельного дослідження.

Ці спостереження вказують на те, що в ряді N-гетарилалкіл-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-У 3-карбоксамідів зафіксовані приблизно такі ж структурні та біологічні закономірності, які були отримані раніше для подібних похідних 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохіноліну- [288, 292] і 2-гідрокси-4-оксо-4*H*-піридо[1,2-а]піримідин- похідних 3-карбонової кислоти [284]. Іншими словами, можна вважати, що знеболюючий ефект досліджуваних груп речовин більшою мірою зумовлений структурою гетарилалкіламідного фрагмента, ніж власне біциклічною частиною молекули гетарилкарбонової кислоти.

Ще один цікавий та досить важливий результат, який було отримано при аналізі просторової будови отриманих сполук [289]. Було показано, що бензотіазин-3-карбамідний фрагмент у всіх досліджуваних зразках залишається практично незмінним. Однак розташування N-гетарил(арил) метилових замісників у кристалах істотно змінюється і це суттєво відображається на їх анагетичних та протизапальних властивостях. Сполуки, які є потужними, помірними або слабкими анагетиками цілком можуть виявити потужну антифлогістичну дію, або виявитися зовсім неактивними речовинами, залежно від просторової структури (наприклад, N-тіофен-2-ілметиламід (NI-30), N-3-метилбензиламід (NI-31) і N-фуран-2-ілметиламід (NI-29), відповідно). Очевидно такий результат зумовлений різними молекулярними мішенями для реалізації їх знеболюючої та протизапальної дій.

На окрему увагу заслуговує також той факт, що знайдені закономірності є справедливими лише щодо правообертальних (N-R-амідів бензильного типу). Однак, навіть таке обмежене коло об'єктів, згідно даних літератури, дозволяє говорити про залежність біологічних властивостей від різної кристалічної будови та інших поліморфних модифікацій молекул [108, 189], проте питання чи залишаються індивідуальні відмінності між різними поліморфними

формами однієї і тієї ж речовини після їх переведення з кристалічного стану в розчин, ще остаточно не вирішене.

Усі сполуки цього класу кристалізуються у вигляді центросиметричних просторових груп, це свідчить про існування їх симетричних еквівалентів у кристалах з дзеркально протилежною конформацією через наявність площини симетрії. Іншими словами, кристали N-гетарил(арил)алкіл-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів можуть утворювати дзеркальні конформери. Тому однозначно стверджувати, який з них забезпечує високу аналгетичну активність, можливо лише в окремих випадках, коли є змога відокремити такі конформери та піддати їх порівняльним фармакологічним випробуванням.

Саме спроба дати відповідь на це питання здійснена в розділі 3.4 при вивченні базових фармакологічних ефектів N-(1-арилетил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів та їх оптичних ізомерів. На основі даних, отриманих в результаті фармакологічних випробувань, хіральні N-(1-арилетил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміди показали очевидну стереоспецифічність біологічних властивостей. Тому на тлі низької активності (S)-енантіомерів, їх дзеркальні ізомери, які мають (R)-конфігурацію хіральних центрів, були більш потужними аналгетиками та протизапальними засобами, ніж лорноксикам і диклофенак. В той же самий час, надзвичайно високий рівень активності був відзначений у рацемічної сполуки N-[1-(4-метоксифеніл)етил]-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамиду (сполука NI-18), що, очевидно пов'язано із унікальними кристалічними та молекулярними властивостями цієї структури, що досить незвичне для рацематів. Тобто, наше дослідження продемонструвало, що протизапальні, а особливо знеболюючі властивості N-(1-арилетил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів значною мірою визначаються їх молекулярними кристалічними конформаціями, а також природою упаковки молекули в кристалічній фазі [291].

Наступним кроком в дослідженні стало визначення сполуки-лідера серед похідних бензотіазин-3-карбоксамідів. Для цього був проведений аналіз гострої токсичності найбільш активних композицій. Ними стали: N-(4-метилбензил)-; N-(4-метоксибензил)-; N-(піридин-3-іл)-; N-(5-метилпіридин-2-іл)- та N-(тіофен-2-ілметил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміди (сполуки з лабораторними шифрами NI-7, NI-9, NI-82, NI-87 та NI-30, відповідно). Їх токсичність порівнювали із типовим представником групи НПЗЗ – диклофенаком, а також із найбільш близькими за хімічною будовою лікарськими засобами з групи оксикамів – лорноксикамом та мелоксикамом. Після визначення середньосмертельної дози за в/оч введення у мишей виявлено (розділ 3.5, табл. 3.8), що найменш токсичною була сполука NI-9 (її LD₅₀ становила 682 (620÷743) мг/кг). За цим показником вона не лише перевершувала інші похідні бензотіазин-3-карбоксамідів, але і референс-препарати за аналогічних режимів введення. Згідно класифікації речовин за токсичністю [50], ця сполука відноситься до IV класу – малотоксичні речовини.

Для подальших поглиблених досліджень фармакологічної ефективності безпечності цієї сполуки необхідно було визначитись із препаратами порівняння. Вибір диклофенаку не викликав сумнівів, оскільки цей препарат є «золотим стандартом» класу НПЗЗ та зазвичай рекомендований для проведення експериментальних досліджень [16, 54]. Щодо іншого препарату, то ним був обраний мелоксикам, який є селективним інгібітором ЦОГ-2 і досить потужним лікарським засобом, який широко використовується в клінічних умовах для лікування больових синдромів різного генезу [93, 162]. Крім високої ефективності, мелоксикам завдяки своїй селективності до ЦОГ-2 є більш безпечним щодо ШКТ, порівняно з лорноксикамом та диклофенаком, які неселективно інгібують цей ензим.

Можлива вибірковість антипростагландинової дії сполуки-лідера була вивчена *in silico* за допомогою молекулярного докінгу цільового N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-диоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду у сайт зв'язування селективного інгібітора ЦОГ-2 – мелоксикаму (розділ 3.6).

Результати підтвердили наші сподівання і продемонстрували, що сполука NI-9 має високий ступінь спорідненості до ЦОГ-2, а відтак прогнозується значна вірогідність реалізації її фармакологічної активності із залученням саме цього механізму.

Згідно рекомендацій з доклінічного вивчення потенційних лікарських засобів [54], наступним кроком в роботі було поглиблене дослідження антиноцицептивної дії сполуки-лідера за різних моделей больового синдрому. Для цього спочатку було визначено широту її терапевтичного потенціалу в порівнянні з референтними препаратами. Для цього обрано внутрішньошлунковий шлях введення, оскільки сполуки цього класу погано розчиняються в воді, а також з міркувань найбільш вірогідного та зручного її застосування в клінічних умовах. Було визначено середньосмертельну дозу (LD_{50}), середню ефективну дозу за аналгетичною активністю (ED_{50}) та розрахований терапевтичний індекс (табл. 7.1.).

Результати показали, що сполука NI-9 за широтою терапевтичного діапазону переважає диклофенак в 7,27 рази, а мелоксикам – в 2,1 рази, тобто є більш ефективною за обидва препарати порівняння.

В подальшому дослідження ефективності сполуки NI-9 проводили в її середній ефективній дозі 3 мг/кг в/шл, так само як і препарати порівняння – диклофенак (8 мг/кг) та мелоксикам (5 мг/кг). Оцінка антиноцицептивної активності наведені в розділі 4.

Міжнародна асоціація з вивчення болю в залежності від механізму, який лежить в основі розвитку цього патологічного синдрому, виділяє його на три основних групи: соматогенний (ноцицептивний), неврогенний та психогенний [226]. Соматогенний больовий синдром виникає внаслідок активації ноцицепторів при травмі, запаленні, ішемії тканин. Нейрогенний біль з'являється при порушенні ЦНС (центрального) або периферичної нервової імпульсації (нейропатичний біль). Якщо больовий синдром не має чіткої фізіологічної причини, його вважають психогенним.

Таблиця 7.1.

Порівняльна оцінка ефективності досліджуваних сполук при
внутрішньошлунковому введенні у щурів

Сполука	LD ₅₀ (мг/кг)	ED ₅₀ (мг/кг)	Терапевтичний індекс (ТІ)
НІ-9	822,6	2,98	276,0
Диклофенак	314,8	8,29	37,97
Мелоксикам	667,5	5,08	131,4

Залежно від локалізації пошкодження, соматичний біль поділяють на: поверхневий (пошкодження шкірних покривів), глибокий (пошкодження кістково-м'язової системи) і вісцеральний (при пошкодженні внутрішніх органів). Згідно даних літератури відомо [78], що різні аналгетики (НПЗП, опіоїди) є ефективними в лікуванні соматогенного болю і демонструють відносно низьку активність проти невропатичного болю і зокрема алодінії. Аналіз літературних даних [328] показав, що причиною такої залежності може бути наявність ЦОГ-1 у спинному мозку щурів, яка активується в різних моделях нервової болі при травмах (перев'язка або перерізка периферичних нервів), та виникнення запалення. Крім того, головним механізмом розвитку гіпералгезії за невропатичного больового синдрому є порушення ГАМКА- і гліцин-ергічного гальмування ноцицептивних нейронів в дорсальних рогах спинного мозку з одночасним посиленням NMDA опосередкованого збудження [95]. В експерименті показано [94], що такі фактори імунної системи, як цитокіни (інтерлейкін (ІЛ) -1 β , ІЛ-6, тумор некротичний фактор (ТНФ- α) і клітини (нейтрофіли, макрофаги, Т-лімфоцити та ін.) є важливими посередниками в розвитку больових синдромів за таких станів.

Результати, викладені в розділі 4, засвідчили, що метоксибензиламід-похідне 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполука NI-9) виявляє виразну антиноцицептивну дію на всіх моделях больових синдромів. В таблиці 7.2 підсумовані дані щодо аналгетичної активності згаданої сполуки.

Таблиця 7.2.

Аналгетична активність сполуки NI-9 та препаратів порівняння на різних моделях больової чутливості (%).

Compound	«Оцтово-кислі корчі» у мишей	Модель «tail-flick» у щурів	Ад'ювантний артрит у щурів	Діабетична нейропатія у щурів
NI-9	38,09	49,75	43,32	18,96
Мелоксикам	36,73	45,68	26,26	13,34
Диклофенак	41,95	55,92	33,69	-
Габапентин	-	-	-	20,83

Можна відмітити, що на моделях соматичного та термічного ушкодження активність цієї сполуки співставляється з мелоксикамом, проявляє тенденцію до деякої переваги над його ефектом, однак поступається «золотому стандарту НПЗЗ» – диклофенаку. В той же час, на моделі експериментального запального процесу (АДА) сполука NI-9 виявляла більш потужну антиноцицептивну дію, ніж обидва референтних препарати. Крім того, на моделі діабетичної полінейропатії сполука, що досліджувалась, також переважала мелоксикам, проте поступалась габапентину, який, як відомо, є головним засобом в лікуванні нейропатичного болю. Ми вважаємо, що отримані результати можуть бути наслідком більшої селективності даної молекули до ЦОГ-2, активація якої відбувається за умов запального процесу та приймає участь в розвитку больової реакції нейропатичного генезу [271]. Крім того, в механізмах

антиноціцептивної дії сполуки NI-9 приймають участь альфа1- та альфа2-адренорецептори, дофамінові рецептори, а також частково - NMDA-рецептори [35]. Встановлено також більш потужний вплив цієї сполуки на систему нітроген монооксиду, а також стимулюючий вплив на обмін гідроген сульфїду, що не тільки сприяє протизапальній і знеболуючій активності, але і пояснює її більшу безпеку щодо шлунка [93, 202].

Отримані дані свідчать, що метокси-бензил-похідне 4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполука NI-9) виявляє виразну знеболуючу дію на різних моделях больових синдромів, як соматичного, так і запального і нейрогенного походження. За силою аналгетичного ефекту ця сполука переважає мелоксикам на всіх моделях больових синдромів, та диклофенак на моделі експериментального запалення (АДА).

Для всіх препаратів класу нестероїдних протизапальних засобів існує небезпека пошкоджуючої дії на ШКТ, особливо, на СОШ. Саме НПЗЗ-індукована гастротоксичність є класо-специфічним побічним ефектом який серйозно обмежує застосування НПЗЗ [11, 25, 47, 56, 87, 217, 233]. НПЗЗ займають другу сходинку за частотою зареєстрованих в Україні побічних реакцій, поступаючись лише антибактеріальним засобам для системного застосування. Так, саме НПЗЗ обумовлюють 48,7 % всіх побічних ефектів фармакотерапії, причому більше 90,0 % з них відноситься до ускладнень з боку ШКТ. Згідно інших джерел, частка побічних реакцій, які викликають НПЗЗ від усієї кількості препаратів, складає 20-25 %, і серед цих гастроінтестинальна токсичність становить 52,5 % [53, 184, 185].

Специфічне ураження шлунку, яке включає невиразкову диспепсію, болі в епігастрії, анорексію, езофагіт, закрепи та проноси, утворення ерозій та виразок в шлунку і 12-палій кишці, і навіть перфорацію, набуло клінічного визначення і наразі називається терміном «НПЗЗ-гастропатія» [6, 11, 87, 217, 233)]. Ці ураження переважно торкаються шлунка та 12-палої кишки, хоча НПЗЗ можуть вражати будь-які відділи ШКТ – від стравоходу до товстої кишки. Найбільші ураження викликають кеторолак, ацеклофенак, целекоксиб,

дескетопрофен, мелоксикам, німесулід та рофекоксиб. Ризик кровотеч підвищувався у пацієнтів, які мали в анамнезі виразкову хворобу та/або шлунково-кишкові кровотечі та застосовували антиагрегатні засоби.

НПЗЗ зазвичай здатні порушувати цілісність СОШ через вплив на різні рівні її захисту [142]. Основними є передепітеліальні (слизистий бікарбонатно-фосфоліпідний «бар'єр», що створюють клітини поверхневого епітелію шлунку, які продукують слиз, бікарбонати, фосфоліпіди, пептиди, білки теплового шоку, та деякі інші біологічно активні речовини, які нейтралізують і сповільнюють зворотну дифузію іонів гідрогену з просвіту шлунку до слизових клітин); епітеліальні (стійкість поверхні епітеліальних клітин і міжклітинних контактів до зворотньої дифузії іонів гідрогену і гідрофобні властивості слизової оболонки, які сприяють «відштовхуванню» хлороводневої кислоти, а також висока проліферативна здатність епітеліальних клітин) та постепітеліальні, які забезпечуються вазоактивними молекулами. Найбільш відомими в цьому плані компонентами є простагландини – ПГЕ₂ та ПГІ₂. За сучасними уявленнями, протекторна дія їх щодо СОШ реалізується через декілька механізмів: пригнічення утворення хлороводневої кислоти в шлунку, збільшення секреції слизу та бікарбонату, а ПГІ₂, є потужним вазодилататором, який забезпечує нормальний кровообіг в слизовій шлунку, стабілізує мембрани опасистих клітин і лізосом, пригнічує продукцію вільних радикалів і ферментів нейтрофілами, регуляцію судинного ендотелію.

В біохімічних механізмах розвитку НПЗЗ-індукованих пошкоджень шлунку важливу роль мають порушення мікроциркуляції, що виникають внаслідок гіперпродукції вазоконстрикторних та зменшення вмісту вазодилатуючих молекул. В літературі описана ціла низка біологічно активних речовин ендотеліального та плазменного походження, які регулюють тонус судин. Серед цих медіаторів окрім простагландинів, є вільні радикали кисню, оксид азоту, а також, як було нещодавно встановлено H₂S [220, 300, 301]. Тому пошук та дослідження нових лікарських засобів, які мають протизапальну та

аналгезуючу активність, обов'язковою умовою є встановлення їх безпечності щодо ШКТ.

Отже, обов'язковим кроком було оцінити ушкоджуючу дію нового похідного карбоксамідів на слизову оболонку шлунка та можливі механізми цього впливу.

Проведені дослідження (розділ 5) підтвердили, що нове оригінальне похідне N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти володіє достатнім профілем безпеки, і за своїм впливом на СОШ є менш токсичною порівняно з найближчим за хімічною будовою препаратом мелоксикамом. Про це доказово свідчить менший виразковий індекс цієї сполуки при тривалому введенні її в організм в середній терапевтичній дозі ED₅₀ (3 мг/кг).

Отримані в дослідженні результати показали, що серед молекулярних механізмів модуляції стану СОШ на тлі дії сполуки NI-9, можна відмітити її негативний вплив на процеси пероксидації ліпідів та білків, продукцію слизу, фосфоліпідний спектр мембран клітин СОШ, ступінь виразності якого значно поступається аналогічним впливам мелоксикаму. Поряд із цим, слід відмітити, що на відміну від останнього, похідне бензотіазин-3-карбонової кислоти не має пригнічувальної дії на продукцію нітроген монооксиду, а також проявляє тенденцію до підвищення вмісту гідроген сульфід у СОШ, що і може бути одним із пояснень її більшої безпечності щодо шлунка.

Причиною таких відмінностей, на наш погляд, можуть бути особливості хімічної будови цієї молекули. З літератури відомо, що однією з передумов нешкідливості НПЗЗ щодо ШКТ, є селективний вплив на ЦОГ-2 та відсутність або мінімальна дія на ЦОГ-1. Мелоксикам, як найбільш близький за будовою НПЗЗ, відноситься до групи препаратів, що переважно впливають на індучибельну ізоформу ЦОГ [93, 162]. Препарат зв'язується із верхньою частиною каналу ЦОГ-2 і має збалансований профіль ЦОГ-2-селективності. Інші високоселективні інгібітори ЦОГ-2 – коксиби – також не мають здатності ушкоджувати шлунок, однак, вони зв'язуються із боковим карманом каналу

ЦОГ-2, і слабше інгібують тромбоксан, що і пояснює підвищений ризик тромбоемболічних ускладнень за їх тривалого використання [133]. Цілком можливо, що похідне N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти, яке вивчалось, має свої особливості взаємодії із молекулярними маркерами запалення та болю. Однак для остаточних висновків необхідно провести додаткові дослідження в цьому напрямку.

Таким чином можна вважати, що сполука N-(4-метоксибензил)-4-метил-2,2-діксо-1*H*-2 λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти має високий ступінь безпечності щодо ШКТ у інтактних тварин, за яким перевершує референс-препарат мелоксикам. Ця відмінність, головним чином, зумовлена менш виразним депримуєчим впливом на поступітеліальний механізм захисту слизової оболонки шлунка, а саме, продукцію вазодилатуючих молекул в СОШ. Результати доповнюють дані щодо фармакодинаміки похідного 4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти та обумовлюють доцільність його подальших досліджень як потенційного неопіїдного аналгетика.

Обов'язковим компонентом при вивченні потенційного лікарського засобу є дослідження механізмів його фармакологічної дії. Досліджувана нами сполука є похідним карбонових кислот, яка за хімічною структурою наближена до групи оксикамів. Це відомі препарати з групи НПЗЗ. Тому її дія, безумнівно, реалізується за спільних для цього класу препаратів механізмами дії.

Механізми дії НПЗЗ зумовлені їх впливом на різні патогенетичні ланки запального процесу. В дії цих препаратів виділяють такі вузлові механізми [10, 37]: гальмування синтезу або інактивація медіаторів та модуляторів запалення, особливо простагландинів, за рахунок пригнічення циклооксигеназного і ліпооксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти; зменшення проникності капілярів, що суттєво зменшує ексудативні прояви запального процесу; зниження активності і продукції вільних радикалів, яке здійснюється шляхом гальмування ферментів-продуцентів активних форм кисню (НАДФН-оксидази, фосфоліпази), а також порушенням трансмембранного транспорту

аніонів та прямим зв'язуванням вже утворених радикалів; стабілізацію лізосом, яка перешкоджає виходу у цитоплазму і позаклітинний простір лізосомальних гідролаз, здатних пошкоджувати тканини; гальмування синтезу макроергів (АТФ), що зменшує енергозабезпеченість запального процесу; цитостатична дія, яка приводить до гальмування проліферативної фази запалення.

Механізм аналгетичної дії складається з декількох компонентів, кожен з яких може мати самостійне значення. Практично всі НПЗЗ проявляють анальгезуючий ефект в концентрації меншій, ніж протизапальна. Це пояснюється їх антипростагландиною дією, оскільки призводить до пригнічення вивільнення брадикініну, серотоніну, гістаміну та інших альгогенів, що попереджає розвиток гіпералгезії, а зменшення ексудації в осередку запалення і стабілізація мембран лізосом, зменшує механічний тиск на больові рецептори в тканинах. Все це становить основний периферійний механізм антиноцицептиної дії НПЗЗ. Проте цей ефект реалізується не лише за рахунок периферичної дії. До певної міри цей ефект опосередковується і через центральні механізми формування больової реакції на рівні таламусу (локальна блокада ПГЕ₂ та ПГФ_{2α} в ЦНС), що приводить до гальмування проведення больових імпульсів до кори [91, 305]. Більш детально механізми аналгетичної дії цих сполук описані в розділі 1.

Досить важливою складовою знеболюючої дії НПЗЗ є рецепторні механізми, які опосередковуються через вплив на різні рецептори як на периферії, так і в центральних структурах.

Сполука, яку ми досліджували, отримана методом біоізостеричної заміни в молекулі оксикамів за методологією «flip-flop drugs». Поглиблені дослідження її знеболюючої активності обумовлюють необхідність визначення основних механізмів її дії. Першим етапом, згідно рекомендацій з доклінічного вивчення потенційних аналгетичних засобів, є оцінка опіоїдергічного компонента аналгетичної дії сполуки NI-9 [54]. Згідно отриманих результатів, попереднє введення налоксону (антагоніста опіоїдних рецепторів) не впливало на ступінь виразності антиноцицептивної активності сполуки, тоді як знеболююча дія

відомого агоніста мю- та капа-опіоїдних рецепторів – налбуфіну на тлі дії налоксону – навпаки, значно зменшувалась (в 1,7-2,4 рази) в усі терміни дослідження (табл. 6.1). Це свідчить про відсутність залученості опіоїдних рецепторів в механізмах анальгетичної дії сполуки NI-9.

В механізмах больової перцепції важливу роль відіграє моноамінова система мозку, оскільки моноамін-вмісні нейрони містяться в значних кількостях в структурах мозку, функція яких тісно пов'язана із ноціцепцією та антиноціцепцією [214]. Крім того, катехоламіни безпосередньо забезпечують міжструктурні зв'язки в головному мозку, а вплив на них фармакологічними препаратами суттєво модулює больову чутливість.

Наші дослідження, представлені в розділі 6 також свідчать на користь участі катехоламінергічних механізмів дії сполуки, яка вивчалась. Так, попереднє введення ангоніста центральних альфа₂-адренорецепторів йохімбіну суттєво зменшувало знеболуючий ефект похідного 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду (в 2,7 рази), особливо на перші дві години експерименту, тоді як введення агоністу цих рецепторів клонідину підвищувало больовий поріг. Залученість альфа₁-адренорецепторів в механізми дії нашої сполуки підтверджують результати, отримані після попереднього введення агоніста фенілефрина, який посилював дію сполуки, і антагоніста празозина, на тлі введення якого зафіксоване статистично вірогідне зниження протибольової активності. Бета₂-адренорецептори, як показали результати, не відіграють суттєвої участі в механізмах дії сполуки, оскільки введення агоніста цих рецепторів ізопреналіну не викликало значущих змін її дії, а неселективний антагоніст пропранолол зменшував ефект сполуки лише в ранні терміни дослідження.

Наукові дані переконливо свідчать про участь дофамінергічної системи в процесах проведення болю та знеболенні [7]. Тому на наступному етапі були визначені зміни ефекту сполуки NI-9 на тлі попереднього введення препарату наком, який підвищує вміст дофаміну в організмі, а також антагоністу дофамінових D₂-рецепторів – аміназину. За отриманих результатів, можна

стверджувати, що ця система безперечно задіяна в дії, що вивчається. Так, введення аміназину викликало статистично вірогідне зменшення знеболюючої дії сполуки в усі терміни дослідження в 1,52, 1,79, 1,25 та 1,70 рази, порівняно аналогічними показниками монотерапії NI-9. Натомість введення леводопи посилювало аналгетичну дію, особливо на 1-й та 2-й год після введення (в 1,67 та 1,44 рази).

Останнім часом в науковій літературі активно обговорюється питання про перспективи створення нових аналгетиків на основі агоністів нейрональних нікотин-чутливих холінорецепторів (*nAChR*) [68, 150, 199]. В дослідженнях аналгетичної активності алкалоїда Eribatidine було з'ясовано, що він проявляє в 200-500 разів сильнішу знеболюючу дію ніж морфін, не змінює своєї ефективності при введенні налоксону, і за механізмом дії є потужним агоністом нейрональних нікотинових холінорецепторів [278]. Тому не дивним є увага дослідників до синтетичних представників цієї групи біологічно активних сполук. Пошук проводився серед похідних різних азотистих гетероциклів [278]. Ефективні аналгетики з подібним механізмом дії були знайдені серед 4-гідроксихінолін-2-онів та їх структурних аналогів [288, 320].

Структурна подібність похідних бензотіазин-3-карбоксамідів до цього класу сполук стала передумовою для оцінки залученості холінергічної системи до аналгетичної дії сполуки NI-9. В якості фармакологічного аналізатора було використано специфічний нікотиновий антагоніст ніфедипін, який показав здатність блокувати аналгетичну активність Eribatidine [278]. З'ясувалось, що перші години після введення ніфедипін не змінював силу аналгетичної дії NI-9, а в подальшому із збільшенням терміну дослідження статистично вірогідно блокував його знеболюючу активність, що доводить участь саме цього типу рецепторів в фармакодинаміці похідного карбоксаміду.

Останні роки в клінічній практиці при лікуванні больових синдромів різного генезу застосовують лікарські засоби, які впливають на систему нейроамінокислот – глутамату та гама-аміномасляної кислоти [5]. Їх дія зумовлена не тільки безпосереднім впливом на відповідні рецептори, але і

модуляцією судомної та нейропластичної активності головного мозку, участю в формуванні ексайтотоксичності, яка приймає участь в процесах формування больового порогу та больової поведінки [126, 218].

Дослідження участі ГАМК-ергічної системи в механізмі дії сполуки NI-9 проводили за допомогою діазепаму та флумазенілу, вплив на NMDA рецептори оцінювали за допомогою мемантину. Результати не показали вірогідних даних щодо участі гама-аміномасляної кислоти в дії препарату, оскільки флумазеніл практично не впливав на його ефект, а діазепам – посилював, очевидно, за рахунок загального седативного ефекта.

Щодо NMDA-рецепторів, то отримані дані показали, що попереднє введення мемантину посилювало аналгетичну активність сполуки NI-9, особливо на 2, 3 та 4 год, що може свідчити про участь системи глутамату в антиноціцепції, однак ступінь її задіяності потребує додаткових досліджень.

Таким чином, результати показали, що в антиноцицептивному ефекті нового похідного 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду з лабораторним шифром NI-9, не залучена опіоїдергічна система. Натомість доведена участь холінергічної системи, альфа1- та альфа2-адренорецепторів, дофамінових, а також частково NMDA-рецепторів.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі теоретично обґрунтовано та експериментально доведено доцільність цілеспрямованого синтезу та пошуку перспективних речовин з аналгетичною активністю серед нових оригінальних похідних *N*-арил(гетарил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду, перспективних для створення на їх основі нового ненаркотичного аналгетика, конкурентоспроможного з диклофенаком та мелоксикамом.

1. Одноразове внутрішньоочеревне введення щурам похідних 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів, як і диклофенаку та лорноксикаму в скринінговій дозі 20 мг/кг на моделі карагенінового набряку супроводжується зменшенням гіперальгезії та об'єму ушкодженої кінцівки тварин. Високу аналгетичну та протизапальну активності, які співставлялись або перевершували референтні препарати, були виявлені серед *N*-піридил-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів у сполук з лабораторними шифрами NI-82, та NI-87, серед гетарилалкіламідів-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду – у сполуки NI-30, а найвищу антиноціцептивну та антифлогогенну активності зареєстровані серед бензиламідів 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти у сполук з лабораторними шифрами NI-7 та NI-9.

2. Аналіз гострої токсичності найбільш активних композицій: *N*-(4-метилбензил)-; *N*-(4-метоксибензил)-; *N*-(піридин-3-іл)-; *N*-(5-метилпіридин-2-іл)- та *N*-(тіофен-2-ілметил)-4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміди (сполуки з лабораторними шифрами NI-7, NI-9, NI-82, NI-87 та NI-30), показав, що найменш токсичною була сполука NI-9 (її LD₅₀ становив 682 (620÷743) мг/кг). За цим показником NI-9 не лише перевершувала інші похідні бензотіазин-3-карбоксамідів, але і референс-препарати диклофенак, лорноксикам та мелоксикам за аналогічних режимів введення. Згідно класифікації речовин за токсичністю ця сполука відноситься до IV класу –

малотоксичні речовини. Поряд з цим, сполука NI-9 є більш ефективною за диклофенак та мелоксикам: її середньосмертельна доза (LD_{50}) за внутрішньошлункового введення становить 822,6 мг/кг, середня ефективна доза за анальгетичною активністю (ED_{50}) - 2,98 мг/кг, а терапевтичний індекс – 276,0, тобто за широтою терапевтичного діапазону сполука NI-9 переважає диклофенак в 7,27 рази, а мелоксикам – в 2,1 рази.

3. Похідне 4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполука NI-9) виявляє виразну знеболюючу дію на різних моделях больових синдромів – соматичного, запального і нейрогенного походження. Анальгетична активність (AA) сполуки NI-9 на моделі оцтово-кислих корчів у мишей та термічного подразнення у щурів становила 38,1 та 49,8 % відповідно, що було вище за такий показник мелоксикаму (36,73 та 45,68 %), та поступалась диклофенаку (41,9 та 55,9 %). На моделі системного запального процесу (ад'ювантного артриту) знеболююча дія сполуки NI-9 статистично переважала мелоксикам та диклофенак (43,3 % проти 26,3 та 33,7 %, $p < 0,05$). На моделі нейропатичного больового синдрому (діабетична нейропатія) анальгетична дія сполуки NI-9 була більшою за мелоксикам (18,9 проти 13,3 %, $p < 0,05$), однак цей показник був нижчим за такий у габапентину (20,8 %, $p < 0,05$).

4. Тривале (28-денне) інтрагастральне введення сполуки NI-9 (3 мг/кг) викликало виразкові ураження СОШ, які були достовірно меншими, ніж в групі тварин, яким вводили мелоксикам (5 мг/кг). За умов введення похідного 4-метил-2,2-діксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти множинність, важкість виразкування та виразковий індекс були меншими в 1,54, 1,31 та 1,73 рази відповідно, ніж у референс-препарату ($p < 0,05$). Пошкодження СОШ на тлі дії сполуки NI-9 супроводжується вірогідним зменшенням вмісту глікозаміногліканів (на 11,2 %), зростанням рівнів МДА та КГП на 20,7 % та 14,3 % ($p < 0,05$), порушенням фосфоліпідного спектру мембран. За впливом на процеси пероксидації ліпідів і білків та продукцію слизу сполука NI-9 вірогідно поступалась мелоксикаму, тоді як за впливом на фосфоліпідний бішар мембран СОШ ці сполуки були співставними.

Після введення сполуки NI-9 вміст нітратів і нітритів, рівень H_2S в СОШ вірогідно не змінювались, тоді як на тлі застосування мелоксикаму - достовірно знижувались. Поряд з цим, сполука NI-9 не впливала на чутливість мезентеріальних артерій до вазорелаксуючої дії H_2S , тоді як референс-препарат мелоксикам викликав суттєве зниження H_2S -індукованої вазодилатації (EC_{50} (H_2S) вірогідно зростала на 21,2%, $p < 0,05$).

5. Антиноціцептивний ефект нового похідного 4-метил-2,2-діоксо-1*H*-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду (сполуки NI-9) реалізується через вплив на холінергічну систему, альфа-1 та альфа-2 адренорецептори, дофамінові та частково - NMDA-рецептори. В той же час опіоїдергічна система не залучена в механізми знеболюючої дії цієї сполуки.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абдульвапова, З. Н., Артемова, Е. В., Горбачева, А. М., Галстян, Г. Р., Токмакова, А. Ю., & Гаврилова, С. А. (2018). Сравнительная оценка различных моделей дистальной диабетической полинейропатии у крыс: преимущества и недостатки. *Проблемы эндокринологии*, 64(3), 188-193.
2. Абрамова, А. Ю., & Перцов, С. С. (2017). Современные представления о боли. *Медицинская сестра*, 8, 20-25.
3. Абузарова, Г. Р., Кукушкин, М. Л., & Каратеев А. Е. (2018). Новые методы фармакотерапии хронической боли. *Consilium Medicum*, 20 (9), 113-117.
4. Арбух, Д. М., Абузарова, Г. Р., & Алексеев, Г. С. (2017). Опиоидные анальгетики в терапии болевых синдромов (часть 1). *Вестник анестезиологии и реаниматологии*, 14(3), 58-76.
5. Арсаханова, Г. А. (2019). Клинико-неврологические особенности и содержание нейроаминокислот у больных с соматогенными типичными прозопапгиями. *Клиническая медицина. Серия: Естественные и технические науки*, 11, 100-103.
6. Бондаренко, О. О., Агибалов, О. М., Дядік, О. О., & Стеценко, А. О. (2020). Особливості ведення хворих з НПЗП-індукованою гастропатією: від розуміння механізмів розвитку до стратегії профілактики та лікування. Ризики короткочасного застосування нестероїдних протизапальних препаратів (ч. I). *Сучасна гастроентерологія*, (4), 39-50.
7. Брагин, Е. О. (1991). *Нейрохимические механизмы регуляции болевой чувствительности*. Москва: Издательство УДН.
8. Быков, Ю. Н., & Калягин, А. Н. (2015). Дифференциальная диагностика нейропатической боли. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*, 1, 4-10.

9. Ванданов, Б. К., Шихметов, А. Н., & Лебедев, Н. Н. (2017). Кеторолак в схеме мультимодального обезболивания. *Амбулаторная хірургія, 1-2*, 65-66.
10. Викторов, А. П. (2003). Побочное действие современных нестероидных противовоспалительных препаратов: проблемы остаются? *Український медичний часопис, 1(33)*, 79-89.
11. Вікторов, О. П. & Кашуба, О. В. (2010). Проблеми та перспективи отримання інформації про побічні реакції, спричинені нестероїдними протизапальними препаратами, шляхом анонімного опитування пацієнтів (погляд на проблему). *Український медичний часопис*. Відновлено з <http://www.health-ua.org/article/rpt/51.html>
12. Владимиров, Ю. А., & Арчаков, А. І. (1972). *Перекисное окисление липидов в биологических мембранах*. Москва: Наука.
13. Волков, П. А., Чурадзе, Б. Т., Севалкин, С. А., Волкова, Ю. Н., & Гурьянов, В. А. (2015). Дексмететомидин как составляющая анальгетического компонента общей анестезии при лапароскопических операциях. *Анестезиология и Реаниматология, 60(1)*, 4-8.
14. Волощук, Н. І., Редер, А. С., Головенко, М. Я., Таран, І. В., & Пашинська, О. С. (2017). Фармакологічний аналіз нейрохімічних антиноцицептивних механізмів дії пропоксазепаму. *Фармакологія та лікарська токсикологія, 1(52)*, 3-12.
15. Волчков, В. А., Ковалев, С. В., & Кубынин, А. Н. (2018). Современные аспекты послеоперационного обезбоживания (обзор литературы). *Вестник СПбГУ. Медицина, 13(3)*, 245-270.
16. Гацура, В. В. (1974). *Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ*. Москва: Медицина.
17. Гейн, С. В., & Баева, Т. А. (2020). Эндоморфины: структура, локализация, иммунорегуляторная активность. *Проблемы эндокринологии, 1*, 78-86.

18. Гладких, И. Н., Синцова, О. В., Лейченко, Е. В., & Козлов, С. А. (2021) Ионный канал *trpv1*: структурные особенности, модуляторы активности, терапевтический потенциал. *Успехи биологической химии*, 61, 107-154.

19. Гордеев, С. А., Турбина, Л.Г., & Зусьман, А. А. (2010). Нейропатическая боль (клиника, патофизиология, лечение). *Клиническая неврология*, 4, 37-43.

20. Евтушенко, И. А., & Марусиченко, В. В. (2016). Адьювантная терапия при хроническом болевом синдроме (научный обзор). *Міжнародний неврологічний журнал*, 3(81), 71-75.

21. Жумалиева, В. А. (2015). Современные представления о патогенезе нейропатической хронической боли. *Медицина и экология*, 4, 25-32.

22. Заїчко, Н. В., Пентюк, Н. О., & Мельник, А. В. (2010). Патент України 52136. Київ: Державне патентне видавництво.

23. Западнюк, И. П., Западнюк, Б. В., Западнюк, В. И., & Захария, Е. А. (1983). *Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте*. Киев: Вища школа.

24. Зозуля, І. С., Максименко, М. В., & Зозуля, А. І. (2016). Біль: підходи до діагностики та лікування в неврології та хірургії. *Український медичний часопис*, 2(112), 37-40.

25. Каратеев, А. Е. (2009). *НПВП-ассоциированная патология верхних отделов ЖКТ: современные аспекты проблемы*. Відновлено з <http://medi.ru/doc/g421512.htm>.

26. Кейтс, М. (1975). *Техника липидологии*. Москва: Мир.

27. Кожем'якін, Ю. М., Хромов, О. С., Філоненко, М. А., & Сайфетдінова, Г. А. (2002). *Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними; Державний фармакологічний центр МОЗ України*. – Київ: Видавничий дім «Авіцена»

28. Коренман, І. М. (1975). *Методы определения органических соединений*. Москва: Химия

29. Кочетов, Г. А. (1980). *Практическое руководство по энзимологии*. Москва: Высшая школа.
30. Лакин, Г. Ф. (1990). *Биометрия*. Москва: Высшая школа.
31. Леонова, В. П. (Ред.) (2011). *Как описывать статистику в медицине. Аннотированное руководство для авторов, редакторов и рецензентов*. Москва: Практическая медицина.
32. Липперт, Г. (1980). *Международная система единиц (СИ) в медицине*. Москва: Медицина.
33. Макаров, С. А., Чурюканов, М. В. Чурюканов, В. В. (2016). Антидепрессанты в лечении боли. *Российский журнал боли*, 3-4, 74-84.
34. Мальченко, О. В. *Експериментальне дослідження гострої токсичності та середньої ефективної дози N-піридил-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду*, Матеріали XVIII Наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку-2021» (15-17 квітня 2021 р.). Вінниця.
35. Мальченко, О. В., Волощук, Н. І. & Грималовська, О. В. (2021). Експериментальне дослідження механізмів анальгезуючої дії похідного 4-метил-2,2-діксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполука NI-9) у щурів. *Вісник Вінницького Національного медичного університету імені М. І. Пирогова*, 1(25), 12-17.
36. Миронов, А. Н. (2012). *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (ч. 1)*. Москва: Гриф и К.
37. Насонов, Е. Л. (2002). НПВП при ревматических заболеваниях. *Ревматология*, 1, 38-44.
38. Ніконов, В. В., Лизогуб, К. І., & Лизогуб, М. В. (2020). Застосування декскетопрофену в сучасних підходах до мультимодальної анальгезії. *Медицина невідкладних станів*, 16(5), 28-32.
39. Овечкин, А. М., & Беккер, А. А. (2017). Внутривенная инфузия лидокаина как перспективный компонент мультимодальной анальгезии,

влияющий на течение раннего послеоперационного период. *Регионарная анестезия и лечение острой боли*, 11(2), 73-83.

40. Овечкин, А. М., Баялиева, А. Ж., Ежевская, А. А., Еременко, А. А., Заболотский, Д. В., Заболотских, И. Б. ... Шадрин, Р. В. (2019). Послеоперационное обезболивание. *Вестник интенсивной терапии имени А. И. Салтанова*, 4, 9-33.

41. Овечкин, А. М., Сокологорский, С. В., & Политов М. Е. (2019). Безопиоидная анестезия и анальгезия – дань моде или веление времени? *Новости хирургии*, 11-12(27), 700-715.

42. Овсянников, В. Г., Бойченко, А. Е., Алексеев, В. В., Каплиев, А. В., Алексеева, Н. С., Котиева, И. М., & Шумарин А. Е. (2014). Антиноцицептивная система. *Медицинский Вестнике Юга России*, 3, 46-54.

43. Осипова, Н. А., & Петрова, В. В. (2013). Типы боли и основные группы антиноцицептивных средств. *Регионарная анестезия и лечение острой боли*, 1, 38-43.

44. Пастушенко, Т. В., Маруший, Л. Б., Жуков, А. А., & Пилипенко, Ю. А. (1985). Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ. *Гигиена и санитария*, 6, 46-48.

45. Петрушенко, М. О., Петрушенко, О. А., & Лук'янець, О. О. (2018). Властивості ванілоїдного рецептора типу 1. *Фізіологічний журнал*, 64(1), 91-102.

46. Прозоровский, В. Б. (1962). Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности. *Фармакология и токсикология*, 1, 115-119.

47. Проценко, Г. О., & Кашуба, О. В. (2011). Порівняльні особливості побічних реакцій, спричинених нестероїдними протизапальними препаратами диклофенаком та німесулідом — проблема клінічної фармакології в ревматології. *Український ревматологічний журнал*, 3, 1-9.

48. Раимкулов, Б. Н., Раимкулова, К. Б., Раимкулова, Х. Б., Баешов, Р. А., & Бхат, Н. А. (2016). Общая характеристика боли. Механизм развития боли (обзор литературы). *Вестник КазНМУ*, 2, 304-307.
49. Саратиков, А. С., Венгеровский, А. И., & Прищеп, Т. П. (1983). *Адьювантная болезнь (морфология, патогенез, экспериментальная терапия)*. Томск: Издательство Томского университета.
50. Свістільнік, Р. В. (2020). Сучасні концепції виникнення болю та можливості його подолання в загальній лікарській практиці. *Міжнародний неврологічний журнал*, 7, 61-69.
51. Сидоров, К. К. (1973). *Токсикология новых промышленных химических веществ*. Москва: Медицина.
52. Соловьева, Э. Ю., Карнеев, А. Н., Иваноков, А. Н., & Джутова, Э. Д. (2012). Декскетопрофен в лечении острой боли в спине. *Неврология и психиатрия*, 5, 36-40.
53. Степанов, Ю. М. & Бреславец, Ю. С. (2013). Динамика содержания ЦОГ-2 в слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки на фоне медикаментозной коррекции НПВП-гастропатий. *Гастроентерология*, 1, 24-27.
54. Стефанов, О. В. (2001). *Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації)*. Київ: Видавничий дім «Авіцена».
55. Тиссен, И. Ю., Лебедев, А. А., Бычков, Е. Р., Лавров, Н. В., Морозов, В. И., & Шабанов, П. Д. (2019). Орексины и подкрепляющие системы мозга. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*, 17(4), 5-18.
56. Ткач, С. М. (2013). Современные подходы к профилактике и лечению НПВП-гастропатий. *Гастроентерология*, 4 (50), 96-102.
57. Ткаченко, М. М., Сагач, В. Ф., & Базілюк, О. В. (2005). Вікові особливості змін скорочувальних судинних реакцій і вміст вільних радикалів кисню та метаболітів оксиду азоту у мишей лінії BALB/c за умов перебування у зоні відчуження. *Фізіолог. журн.*, 51 (3), 32-41.

58. Топчий, Н. В., & Топорков, А. С. (2014). Выбор оптимального НПВП для решения проблемы боли в общей врачебной практике. *Российский медицинский журнал*, 28, 2048.

59. Українець, І. В., Волощук, Н. І., & Мальченко, О. В. (2017). Скринінгові дослідження протизапальної та знеболюючої активності похідних *N-r-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду*, Тези доповідей V Національного з'їзду фармакологів України (18-20 жовтня 2017 р.). Запоріжжя.

60. Українець, І. В., Хамза, Г. М., Бур'ян, Г. О. & Мальченко, О. В. (2018). *Особливості синтезу та просторової будови 4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти*, Тези доповідей Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій», присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича (12-13 квітня 2018 р.). Харків.

61. Шавловская, О. А., Золотовская, И. А., & Прокофьева, Ю. А. (2020). Новый взгляд на лечение боли в спине в свете последних рекомендаций ESCEO. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*, 12(6), 90-95.

62. Шевчук, С. В., Пентюк, О. О., Мусін, Р. А., & Заїчко, Н. В. (2003). Патент України 58110А. Київ: Державне патентне видавництво.

63. Шуба, Н. М. (2004). Ранній ревматоїдний артрит. Клініко-патофізіологічні аспекти. *Мистецтво лікування*, 3, 12-15.

64. Ярмолинская, М. И., Андреева, Н. Ю., Абашова, Е. И., & Мишарина, Е. В. (2019). Экспериментальные модели сахарного диабета 1-го типа. *Журнал акушерства и женских болезней*, 68(2), 109-118.

65. Abd-Elseyedr, A., & Deer, T. R. (2019). Different Types of Pain. *Pain A Review Guide*, 15-16.

66. Aghazadeh Tabrizi, M., Baraldi, P. G., Borea, P. A., & Varani, K. (2016). Medicinal Chemistry, Pharmacology, and Potential Therapeutic Benefits of Cannabinoid CB2 Receptor Agonists. *Chemical reviews*, 116(2), 519-560.

67. Anand, U., Facer, P., Yiangou, Y., Sinisi, M., Fox, M., McCarthy, T. ... Anand, P. (2013). Angiotensin II type 2 receptor (AT2 R) localization and antagonist-mediated inhibition of capsaicin responses and neurite outgrowth in human and rat sensory neurons. *European journal of pain (London, England)*, 17(7), 1012-1026.
68. Arias, H. R. (2000). Localization of agonist and competitive antagonist binding sites on nicotinic acetylcholine receptors. *Neurochemistry international*, 36(7), 595-645.
69. Aronson, J. K. (2009). *Meyler's side effects of analgesics and anti-inflammatory drugs*. San Diego: Elsevier Science.
70. Ataman, S, Borman, P., Evcik, D., Aydog, E., Ayhan, F., Yildizlar, D., ... Ozgocmen, S. (2011). Management of rheumatoid arthritis: consensus recommendations from the Turkish League Against Rheumatism. *Archives of rheumatology*, 2, 273-294.
71. Atkinson, T. J., & Fudin, J. (2020). Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs for Acute and Chronic Pain. *Physical medicine and rehabilitation clinics of North America*, 31(2), 219-231.
72. Azizi, H., Mirnajafi-Zadeh, J., Rohampour, K., & Semnanian, S. (2010). Antagonism of orexin type 1 receptors in the locus coeruleus attenuates signs of naloxone-precipitated morphine withdrawal in rats. *Neuroscience letters*, 482(3), 255-259.
73. Azotla-Cruz, L., Lijanova, I. V., Ukrainets, I. V., Likhanova, N. V., Olivares-Xometl, O., & Bereznyakova, N. L. (2017). New Synthesis, Structure and Analgesic Properties of Methyl 1-R-4-Methyl-2,2-Dioxo-1H-2λ⁶,1-Benzothiazine-3-Carboxylates. *Scientia pharmaceutica*, 85(1), 2.
74. Backonja, M., Wallace, M. S., Blonsky, E. R., Cutler, B. J., Malan, P., Rauck, R., & Tobias, J. (2008). NGX-4010, a high-concentration capsaicin patch, for the treatment of postherpetic neuralgia: a randomised, double-blind study. *The Lancet. Neurology*, 7(12), 1106-1112.

75. Balague, F., Mannion, A. F., Pellise, F., & Cedraschi, C. (2012). Non-specific low back pain. *Lancet (London, England)*, 379(9814), 482-491.
76. Baliki, M. N., & Apkarian, A. V. (2015). Nociception, Pain, Negative Moods, and Behavior Selection. *Neuron*, 87(3), 474-491.
77. Bannister, K., & Dickenson, A. H. (2016). What do monoamines do in pain modulation? *Current opinion in supportive and palliative care*, 10(2), 143-148.
78. Banos, J. E., Sánchez, G., Berrendero, F., & Maldonado, R. (2003). Neuropathic pain: some clues for future drug treatments. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 3(7), 719-727.
79. Baral, P., Udit, S., & Chiu, I. M. (2019). Pain and immunity: implications for host defence. *Nature reviews. Immunology*, 19(7), 433-447.
80. Barreveld, A., Witte, J., Chahal, H., Durieux, M. E., & Strichartz, G. (2013). Preventive analgesia by local anesthetics: the reduction of postoperative pain by peripheral nerve blocks and intravenous drugs. *Anesthesia and analgesia*, 116(5), 1141-1161.
81. Basbaum, A. I., Bautista, D. M., Scherrer, G., & Julius, D. (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 139(2), 267-284.
82. Basso, L., & Altier, C. (2017). Transient Receptor Potential Channels in neuropathic pain. *Current opinion in pharmacology*, 32, 9-15.
83. Benemei, S., Patacchini, R., Trevisani, M., & Geppetti, P. (2015). TRP channels. *Current opinion in pharmacology*, 22, 18-23.
84. Benson, C., Mifflin, K., Kerr, B., Jesudasan, S. J., Dursun, S., & Baker, G. (2015). Biogenic Amines and the Amino Acids GABA and Glutamate: Relationships with Pain and Depression. *Modern trends in pharmacopsychiatry*, 30, 67-79.
85. Bhala, N., Emberson, J., Merhi, A., Abramson, S., Arber, N., Baron, J. A. ... Baigent, C. (2013). Vascular and upper gastrointestinal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs: meta-analyses of individual participant data from randomised trials. *Lancet (London, England)*, 382(9894), 769-779.

86. Bindu, S., Mazumder, S., & Bandyopadhyay, U. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochemical pharmacology*, *180*, 114147.
87. Blackler, R., Syer, S., Bolla, M., Ongini, E., & Wallace, J. L. (2012). Gastrointestinal-sparing effects of novel NSAIDs in rats with compromised mucosal defence. *PloS one*, *7*(4), e35196.
88. Bonezzi, C., Fornasari, D., Cricelli, C., Magni, A., & Ventriglia, G. (2020). Pharmacological Management of Adults with Chronic Non-Cancer Pain in General Practice. *Pain and therapy*, *9*(Suppl 1), 17-28.
89. Bousquet, P., Hudson, A., García-Sevilla, J. A., & Li, J. X. (2020). Imidazoline Receptor System: The Past, the Present, and the Future. *Pharmacological reviews*, *72*(1), 50-79.
90. Bradford, W. D., & Kleit, A. N. (2015). Impact of FDA Actions, DTCA, and Public Information on the Market for Pain Medication. *Health economics*, *24*(7), 859-875.
91. Buring, J. E., Hebert, P. & Romero, J. (1995). Migraine and subsequent risk of stroke in Physicians' Health Study. *Arch. Neurol.*, *52*(2), 129-134.
92. Burness, C. B., & McCormack, P. L. (2016). Capsaicin 8 % Patch: A Review in Peripheral Neuropathic Pain. *Drugs*, *76*(1), 123-134.
93. Burukoglu, D., Baycu, C., Taplamacioglu, F., Sahin, E., & Bektur, E. (2016). Effects of nonsteroidal anti-inflammatory meloxicam on stomach, kidney, and liver of rats. *Toxicology and industrial health*, *32*(6), 980–986.
94. Calvo, M., Dawes, J. M., & Bennett, D. L. (2012). The role of the immune system in the generation of neuropathic pain. *The Lancet. Neurology*, *11*(7), 629-642.
95. Campbell, J. N., & Meyer, R. A. (2006). Mechanisms of neuropathic pain. *Neuron*, *52*(1), 77-92.
96. Casey, S. L., Atwal, N., & Vaughan, C. W. (2017). Cannabis constituent synergy in a mouse neuropathic pain model. *Pain*, *158*(12), 2452-2460.

97. Chahine, M., & O'Leary, M. E. (2014). Regulation/modulation of sensory neuron sodium channels. *Handbook of experimental pharmacology*, 221, 111-135.
98. Chen, L., Yang, G., & Grosser, T. (2013). Prostanoids and inflammatory pain. *Prostaglandins & other lipid mediators*, 104-105, 58-66.
99. Choi, Y. M., & Kim, K. H. (2015). Etifoxine for pain patients with anxiety. *The Korean journal of pain*, 28(1), 4-10.
100. Clarke, T. C., Nahin, R. L., Barnes, P. M., & Stussman, B. J. (2016). Use of Complementary Health Approaches for Musculoskeletal Pain Disorders Among Adults: United States, 2012. *National health statistics reports*, (98), 1-12.
101. Cohen, S. P., & Mao, J. (2003). Is the analgesic effect of systemic lidocaine mediated through opioid receptors? *Acta anaesthesiologica Scandinavica*, 47(7), 910-911.
102. Cohen, S. P., & Mao, J. (2014). Neuropathic pain: mechanisms and their clinical implications. *BMJ (Clinical research ed.)*, 348, f7656.
103. Colhado, O. C., Boeing, M., & Ortega, L. B. (2009). Botulinum toxin in pain treatment. *Revista brasileira de anestesiologia*, 59(3), 366-381.
104. Colloca, L., Ludman, T., Bouhassira, D., Baron, R., Dickenson, A. H., Yarnitsky, D. ... Raja, S. N. (2017). Neuropathic pain. *Nature reviews. Disease primers*, 3, 17002.
105. Cooper, T. E., Chen, J., Wiffen, P. J., Derry, S., Carr, D. B., Aldington, D., Cole, P., & Moore, R. A. (2017). Morphine for chronic neuropathic pain in adults. *The Cochrane database of systematic reviews*, 5(5), CD011669.
106. Coronel, M. F., Labombarda, F., & Gonzalez, S. L. (2016). Neuroactive steroids, nociception and neuropathic pain: A flashback to go forward. *Steroids*, 110, 77-87.
107. Crippa, J. A., Guimaraes, F. S., Campos, A. C., & Zuardi, A. W. (2018). Translational Investigation of the Therapeutic Potential of Cannabidiol (CBD): Toward a New Age. *Frontiers in immunology*, 9, 2009.

108. Cruz-Cabeza, A. J., Bernstein, J. (2014). Conformational Polymorphism. *Chemical Reviews*, *114*, 2170-2191.
109. da Costa, B. R., Reichenbach, S., Keller, N., Nartey, L., Wandel, S., Jüni, P., & Trelle, S. (2017). Effectiveness of non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of pain in knee and hip osteoarthritis: a network meta-analysis. *Lancet (London, England)*, *390*(10090), e21-e33.
110. Danser, A. H., & Anand, P. (2014). The angiotensin II type 2 receptor for pain control. *Cell*, *157*(7), 1504-1506.
111. Davy, A., Fessler, J., Fischler, M., & LE Guen, M. (2017). Dexmedetomidine and general anesthesia: a narrative literature review of its major indications for use in adults undergoing non-cardiac surgery. *Minerva anesthesiologica*, *83*(12), 1294-1308.
112. De Felice, M., & Ossipov, M. H. (2016). Cortical and subcortical modulation of pain. *Pain management*, *6*(2), 111-120.
113. de la Roche, J., Walther, I., Leonow, W., Hage, A., Eberhardt, M., Fischer, M. ... Leffler, A. (2016). Lactate is a potent inhibitor of the capsaicin receptor TRPV1. *Scientific reports*, *6*, 36740.
114. de Sousa, D. P., Nóbrega, F. F., Santos, C. C., & de Almeida, R. N. (2010). Anticonvulsant activity of the linalool enantiomers and racemate: investigation of chiral influence. *Natural product communications*, *5*(12), 1847-1851.
115. Deeks E. D. (2019). Mirogabalin: First Global Approval. *Drugs*, *79*(4), 463-468.
116. Demant, D. T., Lund, K., Finnerup, N. B., Vollert, J., Maier, C., Segerdahl, M. S. ... Sindrup, S. H. (2015). Pain relief with lidocaine 5% patch in localized peripheral neuropathic pain in relation to pain phenotype: a randomised, double-blind, and placebo-controlled, phenotype panel study. *Pain*, *156*(11), 2234-2244.
117. Derry, S., Moore, R. A., Gaskell, H., McIntyre, M., & Wiffen, P. J. (2015). Topical NSAIDs for acute musculoskeletal pain in adults. *The Cochrane database of systematic reviews*, *2015*(6), CD007402.

118. Di Marzo V. (2009). The endocannabinoid system: its general strategy of action, tools for its pharmacological manipulation and potential therapeutic exploitation. *Pharmacological research*, 60(2), 77-84.

119. Di Stefano, G., Di Lionardo, A., Galosi, E., Truini, A., & Cruccu, G. (2019). Acetyl-L-carnitine in painful peripheral neuropathy: a systematic review. *Journal of pain research*, 12, 1341-1351.

120. Di Stefano, G., Truini, A., & Cruccu, G. (2018). Current and Innovative Pharmacological Options to Treat Typical and Atypical Trigeminal Neuralgia. *Drugs*, 78(14), 1433-1442.

121. Dinakar, P., & Stillman, A. M. (2016). Pathogenesis of Pain. *Seminars in pediatric neurology*, 23(3), 201-208.

122. Divakaran E. (2011). Pain - when it affects the person. *Journal of pain & palliative care pharmacotherapy*, 25(4), 372-373.

123. Domon, Y., Arakawa, N., Inoue, T., Matsuda, F., Takahashi, M., Yamamura, N. ... & Kitano, Y. (2018). Binding Characteristics and Analgesic Effects of Mirogabalin, a Novel Ligand for the $\alpha_2\delta$ Subunit of Voltage-Gated Calcium Channels. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 365(3), 573-582.

124. Dubin, A. E., & Patapoutian, A. (2010). Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *The Journal of clinical investigation*, 120(11), 3760–3772.

125. Edelmayer, R. M., Brederson, J. D., Jarvis, M. F., & Bitner, R. S. (2014). Biochemical and pharmacological assessment of MAP-kinase signaling along pain pathways in experimental rodent models: a potential tool for the discovery of novel antinociceptive therapeutics. *Biochemical pharmacology*, 87(3), 390-398.

126. Eisenberg, E., Vos, B. P., & Strassman, A. M. (1993). The NMDA antagonist Memantine blocks pain behavior in a rat model of formalin-induced facial pain. *Pain*, 54(3), 301,307.

127. Ellis, J., Pediani, J. D., Canals, M., Milasta, S., & Milligan, G. (2006). Orexin-1 receptor-cannabinoid CB1 receptor heterodimerization results in both

ligand-dependent and -independent coordinated alterations of receptor localization and function. *The Journal of biological chemistry*, 281(50), 38812-38824.

128. Espinosa-Juarez, J. V., Jaramillo-Morales, O. A., Corona-Ramos, J. N., Medina-Lopez, J. R., & Lopez-Munoz, F. J. (2016). Antinociceptive Interactions Between Meloxicam and Gabapentin in Neuropathic Pain Depend on the Ratio used in Combination in Rats. *Drug development research*, 77(3), 134-142.

129. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. (1986). Strasburg: Council of Europe,123.

130. Falsetta, M. L., Foster, D. C., Woeller, C. F., Pollock, S. J., Bonham, A. D., Haidaris, C. G., & Phipps, R. P. (2016). A Role for Bradykinin Signaling in Chronic Vulvar Pain. *The journal of pain*, 17(11), 1183-1197.

131. Feng, H., Chen, Z., Wang, G., Zhao, X., & Liu, Z. (2016). Effect of the ifenprodil administered into rostral anterior cingulate cortex on pain-related aversion in rats with bone cancer pain. *BMC anesthesiology*, 16(1), 117.

132. Ferdousi, M., & Finn, D. P. (2018). Stress-induced modulation of pain: Role of the endogenous opioid system. *Progress in brain research*, 239, 121-177.

133. Fidahic, M., Jelacic Kadic, A., Radic, M., & Puljak, L. (2017). Celecoxib for rheumatoid arthritis. *The Cochrane database of systematic reviews*, 6(6), CD012095.

134. Fillingim, R. B. (2017). Individual differences in pain: understanding the mosaic that makes pain personal. *Pain*, 158(1), 11-18.

135. Fiorino, D. F., & Garcia-Guzman, M. (2012). Muscarinic pain pharmacology: realizing the promise of novel analgesics by overcoming old challenges. *Handbook of experimental pharmacology*, (208), 191-221.

136. Fischer B. D. (2017). GABA_A Receptors as Targets for the Management of Pain-related Disorders: Historical Perspective and Update. *CNS & neurological disorders drug targets*, 16(6), 658-663.

137. Flink, I. F., Reme, S., Jacobsen, H. B., Glombiewski, J., Vlaeyen, J. W. S., Nicholas, M. K. ... Boersma, K. (2020). Pain psychology in the 21st century: lessons learned and moving forward. *Scandinavian Journal of Pain*, 20(2), 229-238.

138. Focken, T., Liu, S., Chahal, N., Dauphinais, M., Grimwood, M. E., Chowdhury, S. ... Robinette, C. L. (2016). Discovery of Aryl Sulfonamides as Isoform-Selective Inhibitors of NaV1.7 with Efficacy in Rodent Pain Models. *ACS medicinal chemistry letters*, 7(3), 277-282.

139. Foster, N. E., Hartvigsen, J., & Croft, P. R. (2012). Taking responsibility for the early assessment and treatment of patients with musculoskeletal pain: a review and critical analysis. *Arthritis research & therapy*, 14(1), 205.

140. Fricker, L. D., Margolis, E. B., Gomes, I., & Devi, L. A. (2020). Five Decades of Research on Opioid Peptides: Current Knowledge and Unanswered Questions. *Molecular pharmacology*, 98(2), 96-108

141. Friedman, A., & Nabong, L. (2020). Opioids: Pharmacology, Physiology, and Clinical Implications in Pain Medicine. *Physical medicine and rehabilitation clinics of North America*, 31(2), 289-303.

142. Garcia-Rayado, G., Navarro, M., & Lanas, A. (2018). NSAID induced gastrointestinal damage and designing GI-sparing NSAIDs. *Expert review of clinical pharmacology*, 11(10), 1031-1043.

143. Garland E. L. (2012). Pain processing in the human nervous system: a selective review of nociceptive and biobehavioral pathways. *Primary care*, 39(3), 561-571.

144. Gaskell, H., Derry, S., Wiffen, P. J., & Moore, R. A. (2017). Single dose oral ketoprofen or dexketoprofen for acute postoperative pain in adults. *The Cochrane database of systematic reviews*, 5(5), CD007355.

145. Ge, M. M., Chen, S. P., Zhou, Y. Q., Li, Z., Tian, X. B., Gao, F. ... Yang, H. (2019). The therapeutic potential of GABA in neuron-glia interactions of cancer-induced bone pain. *European journal of pharmacology*, 858, 172475.

146. Glasgow, N. G., Siegler Retchless, B., & Johnson, J. W. (2015). Molecular bases of NMDA receptor subtype-dependent properties. *The Journal of physiology*, 593(1), 83-95.
147. Goldberg, D. S., & McGee, S. J. (2011). Pain as a global public health priority. *BMC public health*, 11, 770
148. Gomes, I., Sierra, S., Lueptow, L., Gupta, A., Gouty, S., Margolis, E. B. ... Devi, L. A. (2020). Biased signaling by endogenous opioid peptides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(21), 11820-11828.
149. Gordon, A. L., Lopatko, O. V., Somogyi, A. A., Foster, D. J., & White, J. M. (2010). (R)- and (S)-methadone and buprenorphine concentration ratios in maternal and umbilical cord plasma following chronic maintenance dosing in pregnancy. *British journal of clinical pharmacology*, 70(6), 895-902.
150. Gotti, C., Carbonnelle, E., Moretti, M., Zwart, R., & Clementi, F. (2000). Drugs selective for nicotinic receptor subtypes: a real possibility or a dream? *Behavioural brain research*, 113(1-2), 183-192.
151. Greene, N. Z., Wiley, J. L., Yu, Z., Clowers, B. H., & Craft, R. M. (2018). Cannabidiol modulation of antinociceptive tolerance to Δ^9 -tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology*, 235(11), 3289-3302.
152. Gregory, N. S., Harris, A. L., Robinson, C. R., Dougherty, P. M., Fuchs, P. N., & Sluka, K. A. (2013). An overview of animal models of pain: disease models and outcome measures. *The journal of pain*, 14(11), 1255-1269.
153. Gupta, A., & Bah, M. (2016). NSAIDs in the Treatment of Postoperative Pain. *Current pain and headache reports*, 20(11), 62.
154. Gwak, Y. S., Tan, H. Y., Nam, T. S., Paik, K. S., Hulsebosch, C. E., & Leem, J. W. (2006). Activation of spinal GABA receptors attenuates chronic central neuropathic pain after spinal cord injury. *Journal of neurotrauma*, 23(7), 1111-1124.
155. Hall, D. L., Rezvan, E., Tatakis, D. N., & Walters, J. D. (2006). Oral clonidine pretreatment prior to venous cannulation. *Anesthesia progress*, 53(2), 34-42.

156. Hardikar M. S. (2008). Chiral non-steroidal anti-inflammatory drugs-- a review. *Journal of the Indian Medical Association*, 106(9), 615-624.
157. Hayashida, K. I., Kimuram, M., & Eisenach, J. C. (2018). Blockade of $\alpha 2$ -adrenergic or metabotropic glutamate receptors induces glutamate release in the locus coeruleus to activate descending inhibition in rats with chronic neuropathic hypersensitivity. *Neuroscience letters*, 676, 41-45.
158. Hayashida, K. I., & Obata, H. (2019). Strategies to Treat Chronic Pain and Strengthen Impaired Descending Noradrenergic Inhibitory System. *International journal of molecular sciences*, 20(4), 822.
159. Henschke, N., Kamper, S. J., & Maher, C. G. (2015). The epidemiology and economic consequences of pain. *Mayo Clinic proceedings*, 90(1), 139-147.
160. Ho, K. M., & Ismail, H. (2008). Use of intrathecal midazolam to improve perioperative analgesia: a meta-analysis. *Anaesthesia and intensive care*, 36(3), 365-373.
161. Huang, W. J., Chen, W. W., & Zhang, X. (2016). Endocannabinoid system: Role in depression, reward and pain control (Review). *Molecular medicine reports*, 14(4), 2899-2903.
162. Hunt, R., Lazebnik, L., Marakhouski, Y., Manuc, M., Gn, R., Aye, K. ... Garg, A. (2018). International Consensus on Guiding Recommendations for Management of Patients with Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs Induced Gastropathy-ICON-G. *Euroasian journal of hepato-gastroenterology*, 8(2), 148-160.
163. Iffland, K., & Grotenhermen, F. (2017). An Update on Safety and Side Effects of Cannabidiol: A Review of Clinical Data and Relevant Animal Studies. *Cannabis and cannabinoid research*, 2(1), 139-154.
164. Ito, S., Suto, T., Saito, S., & Obata, H. (2018). Repeated Administration of Duloxetine Suppresses Neuropathic Pain by Accumulating Effects of Noradrenaline in the Spinal Cord. *Anesthesia and analgesia*, 126(1), 298-307.
165. Jang, Y., Kim, M., & Hwang, S. W. (2020). Molecular mechanisms underlying the actions of arachidonic acid-derived prostaglandins on peripheral nociception. *Journal of neuroinflammation*, 17(1), 30.

166. Jarvis M. F. (2010). The neural-glia purinergic receptor ensemble in chronic pain states. *Trends in neurosciences*, 33(1), 48-57.
167. Jasięcka, A., Maślanka, T., & Jaroszewski, J. J. (2014). Pharmacological characteristics of metamizole. *Polish journal of veterinary sciences*, 17(1), 207-214.
168. Kartha, S., Weisshaar, C. L., Philips, B. H., & Winkelstein, B. A. (2018). Pre-treatment with Meloxicam Prevents the Spinal Inflammation and Oxidative Stress in DRG Neurons that Accompany Painful Cervical Radiculopathy. *Neuroscience*, 388, 393-404.
169. Kawanabe, R., Yoshihara, K., Hatada, I., & Tsuda, M. (2021). Activation of spinal dorsal horn astrocytes by noxious stimuli involves descending noradrenergic signaling. *Molecular brain*, 14(1), 79.
170. Khalid, S., & Tubbs, R. S. (2017). Neuroanatomy and Neuropsychology of Pain. *Cureus*, 9(10), e1754.
171. Kharatmal, S. B., Singh, J. N., & Sharma, S. S. (2015). Voltage-Gated Sodium Channels as Therapeutic Targets for Treatment of Painful Diabetic Neuropathy. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 15(14), 1134-1147.
172. Kim, D. J., Jassar, H., Lim, M., Nascimento, T. D., & DaSilva, A. F. (2021). Dopaminergic Regulation of Reward System Connectivity Underpins Pain and Emotional Suffering in Migraine. *Journal of pain research*, 14, 631-643.
173. Kimura, M., Saito, S., & Obata, H. (2012). Dexmedetomidine decreases hyperalgesia in neuropathic pain by increasing acetylcholine in the spinal cord. *Neuroscience letters*, 529(1), 70-74.
174. Kleemann, A., Engel, J., Kutscher, B. & Reichert, D. (2008). *Pharmaceutical Substances: Syntheses, Patents, Applications of the Most Relevant APIs*. Stuttgart.
175. Knezevic, N. N., Yekkirala, A., & Yaksh, T. L. (2017). Basic/Translational Development of Forthcoming Opioid- and Nonopioid-Targeted Pain Therapeutics. *Anesthesia and analgesia*, 125(5), 1714-1732.

176. Kobayashi, K., Yamanaka, H., & Noguchi, K. (2013). Expression of ATP receptors in the rat dorsal root ganglion and spinal cord. *Anatomical science international*, 88(1), 10-16.

177. Kötter, T., da Costa, B. R., Fassler, M., Blozik, E., Linde, K., Juni, P. ... Scherer, M. (2015). Metamizole-associated adverse events: a systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 10(4), e0122918.

178. Kramar, H., Stepaniuk, H., Voloshchuk, N., Taran, I., Kovalenko, S. (2018). Experimental study of pain-relieving mechanisms of 4-[4-oxo-(4h)-quinazolin-3-yl]-benzoic acid (PK-66 compound). *Georgian medical news*, 10(283), 148-154.

179. Kremer, M., Salvat, E., Muller, A., Yalcin, I., & Barrot, M. (2016). Antidepressants and gabapentinoids in neuropathic pain: Mechanistic insights. *Neuroscience*, 338, 183-206.

180. Kremer, M., Yalcin, I., Goumon, Y., Wurtz, X., Nexon, L., Daniel, D. ... Barrot, M. (2018). A Dual Noradrenergic Mechanism for the Relief of Neuropathic Allodynia by the Antidepressant Drugs Duloxetine and Amitriptyline. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 38(46), 9934-9954.

181. Kubinyi, H. (2006). In search of the new compounds-leaders for creation of drugs. *Russian Journal of General Chemistry*, 50, 5-17.

182. Kumar, R., Hazan, A., Geron, M., Steinberg, R., Livni, L., Matzner, H., & Priel, A. (2017). Activation of transient receptor potential vanilloid 1 by lipoxygenase metabolites depends on PKC phosphorylation. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 31(3), 1238-1247.

183. Ladha, K. S., Ajrawat, P., Yang, Y., & Clarke, H. (2020). Understanding the Medical Chemistry of the Cannabis Plant is Critical to Guiding Real World Clinical Evidence. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(18), 4042.

184. Laine, L., Curtis, S. P., Cryer, B., Kaur, A., Cannon, C. P., & MEDAL Steering Committee (2007). Assessment of upper gastrointestinal safety of etoricoxib and diclofenac in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis in the

Multinational Etoricoxib and Diclofenac Arthritis Long-term (MEDAL) programme: a randomised comparison. *Lancet (London, England)*, 369(9560), 465-473.

185. Laporte, J. R., Ibanez, L., Vidal, X., Vendrell, L., & Leone, R. (2004). Upper gastrointestinal bleeding associated with the use of NSAIDs: newer versus older agents. *Drug safety*, 27(6), 411-420.

186. Lau, B. K., & Vaughan, C. W. (2014). Descending modulation of pain: the GABA disinhibition hypothesis of analgesia. *Current opinion in neurobiology*, 29, 159-164.

187. Laumet, G., Garriga, J., Chen, S. R., Zhang, Y., Li, D. P., Smith, T. M. ... Pan, H. L. (2015). G9a is essential for epigenetic silencing of K(+) channel genes in acute-to-chronic pain transition. *Nature neuroscience*, 18(12), 1746-1755.

188. Le Bot, A., Michelet, D., Hilly, J., Maesani, M., Dilly, M. P., Brasher, C. ... Dahmani, S. (2015). Efficacy of intraoperative dexmedetomidine compared with placebo for surgery in adults: a meta-analysis of published studies. *Minerva anesthesiologica*, 81(10), 1105-1117.

189. Leonidov, N. B. (1997). History of the development of the concept of polymorphism of chemical substances (short essay). *Russian Journal of General Chemistry*, XLI, 10-21.

190. Leppert, W., Malec-Milewska, M., Zajaczkowska, R., & Wordliczek, J. (2018). Transdermal and Topical Drug Administration in the Treatment of Pain. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(3), 681.

191. Li, K., Li, H., Luo, D., Feng, H., Ji, C., Yang, K. ... Xu, H. (2020). Efficacy of local infiltration analgesia with ropivacaine for postoperative pain management in cervical laminoplasty: a retrospective study. *Scientific reports*, 10(1), 4217.

192. Li, J. X., Thorn, D. A., Qiu, Y., Peng, B. W., & Zhang, Y. (2014). Antihyperalgesic effects of imidazoline I(2) receptor ligands in rat models of inflammatory and neuropathic pain. *British journal of pharmacology*, 171(6), 1580-1590.

193. Li, J. X., Zhang, Y., & Winter, J. C. (2011). Morphine-induced antinociception in the rat: supra-additive interactions with imidazoline I₂ receptor ligands. *European journal of pharmacology*, 669(1-3), 59-65.

194. Liang, H., Hu, H., Shan, D., Lyu, J., Yan, X., Wang, Y. ... Long, H. (2021). CGRP Modulates Orofacial Pain through Mediating Neuron-Glia Crosstalk. *Journal of dental research*, 100(1), 98-105.

195. Liu, W. Q., Kanungo, A., & Toth, C. (2014). Equivalency of tricyclic antidepressants in open-label neuropathic pain study. *Acta neurologica Scandinavica*, 129(2), 132-141.

196. Ludowieg, J. & Benmaman, D. (1967). Colorimetric differentiation of hexosamines. *Analytical Biochemistry*, 19(1), 80-88.

197. Luong, C., Miller, A., Barnett, J., Chow, J., Ramesha, C., & Browner, M. F. (1996). Flexibility of the NSAID binding site in the structure of human cyclooxygenase-2. *Nature structural biology*, 3(11), 927-933.

198. Machado, F. C., Neto, G. C., Paiva, L. O., Soares, T. C., Nakamura, R. K., Nascimento, L. F. ... Ashmawi, H. A. (2020). Transdermal buprenorphine for acute postoperative pain: a systematic review. *Brazilian journal of anesthesiology (Elsevier)*, 70(4), 419-428.

199. MacPherson, R. D. (2000). The pharmacological basis of contemporary pain management. *Pharmacology & therapeutics*, 88(2), 163-185.

200. Malchenko, O. V. (2021). In-depth investigation of analgesic activity of N-(4-methoxybenzyl)-4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamide derivate on different models of pain perception. *Biomedical and biosocial anthropology*, 42, 57-63.

201. Malchenko, O. V. *Peculiarities of structure and pharmacological properties of 4-Methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxylic acid*. Матеріали XV Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку-2018» (18-20 квітня 2018 р.). Вінниця.

202. Malchenko, O. V., Voloshchuk, N. I. & Pentuk, N. O. (2020). Investigation of 4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamide

derivative influence on the biochemical markers of gastric mucosa in rats. *Biomedical and biosocial anthropology*, 41, 36-40

203. Mannucci, P. M., Nobili, A., & Pasina, L. (2018). Polypharmacy in older people: lessons from 10 years of experience with the REPOSI register. *Internal and emergency medicine*, 13(8), 1191-1200.

204. Maslin, B., Lipana, L., Roth, B., Kodumudi, G., & Vadivelu, N. (2017). Safety Considerations in the Use of Ketorolac for Postoperative Pain. *Current drug safety*, 12(1), 67-73.

205. Mason, K. P., Lubisch, N., Robinson, F., Roskos, R., & Epstein, M. A. (2012). Intramuscular dexmedetomidine: an effective route of sedation preserves background activity for pediatric electroencephalograms. *The Journal of pediatrics*, 161(5), 927-932.

206. Maswadeh, H. M., Semreen, M. H., & Naddaf, A. R. (2006). Anti-inflammatory activity of Achillea and Ruscus topical gel on carrageenan-induced paw edema in rats. *Acta poloniae pharmaceutica*, 63(4), 277-280.

207. Matera, M. G., Calzetta, L., Rogliani, P., Bardaro, F., Page, C. P., & Cazzola, M. (2011). Evaluation of the effects of the R- and S-enantiomers of salbutamol on equine isolated bronchi. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*, 24(2), 221-226.

208. Mathieson, S., Lin, C. C., Underwood, M., & Eldabe, S. (2020). Pregabalin and gabapentin for pain. *BMJ (Clinical research ed.)*, 369, m1315.

209. Matsuda, M., Huh, Y., & Ji, R. R. (2019). Roles of inflammation, neurogenic inflammation, and neuroinflammation in pain. *Journal of anesthesia*, 33(1), 131–139.

210. Matta, J. A., Miyares, R. L., & Ahern, G. P. (2007). TRPV1 is a novel target for omega-3 polyunsaturated fatty acids. *The Journal of physiology*, 578(Pt 2), 397-411.

211. Mazzitelli, M., Palazzo, E., Maione, S., & Neugebauer, V. (2018). Group II Metabotropic Glutamate Receptors: Role in Pain Mechanisms and Pain Modulation. *Frontiers in molecular neuroscience*, 11, 383.

212. McGeary, D. D., McGeary, C. A., & Gatchel, R. J. (2012). A comprehensive review of telehealth for pain management: where we are and the way ahead. *Pain practice : the official journal of World Institute of Pain*, 12(7), 570-577.
213. Medeiros, P., Negrini-Ferrari, S. E., Palazzo, E., Maione, S., Ferreira, S. H., de Freitas, R. L., & Coimbra, N. C. (2019). N-methyl-D-aspartate Receptors in the Prelimbic Cortex are Critical for the Maintenance of Neuropathic Pain. *Neurochemical research*, 44(9), 2068-2080.
214. Mefford, I. N., Foutz, A., Noyce, N., Jurik, S. M., Handen, C., Dement, W. C., & Barchas, J. D. (1982). Distribution of norepinephrine, epinephrine, dopamine, serotonin, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid, homovanillic acid and 5-hydroxyindole-3-acetic acid in dog brain. *Brain research*, 236(2), 339-349.
215. Mlost, J., Bryk, M., & Starowicz, K. (2020). Cannabidiol for Pain Treatment: Focus on Pharmacology and Mechanism of Action. *International journal of molecular sciences*, 21(22), 8870.
216. Monteiro, B., & Steagall, P. V. (2019). Antiinflammatory Drugs. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 49(6), 993-1011.
217. Moore, R. A., Derry, S., Phillips, C. J., & McQuay, H. J. (2006). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), cyclooxygenase-2 selective inhibitors (coxibs) and gastrointestinal harm: review of clinical trials and clinical practice. *BMC musculoskeletal disorders*, 7, 79.
218. Morel, V., Etienne, M., Wattiez, A. S., Dupuis, A., Privat, A. M., Chalus, M., Eschalier, A., Daulhac, L., & Pickering, G. (2013). Memantine, a promising drug for the prevention of neuropathic pain in rat. *European journal of pharmacology*, 721(1-3), 382-390.
219. Morgan, B., & Wooden, S. (2018). Diagnosis and Treatment of Common Pain Syndromes and Disorders. *The Nursing clinics of North America*, 53(3), 349-360.
220. Moriarty, O., Ruane, N., O'Gorman, D., Maharaj, C. H., Mitchell, C., Sarma, R. M. ... McGuire, B. E. (2017). Cognitive Impairment in Patients with

Chronic Neuropathic or Radicular Pain: An Interaction of Pain and Age. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 13, 11-20.

221. Morlion, B., Schäfer, M., Betteridge, N., & Kalso, E. (2018). Non-invasive patient-controlled analgesia in the management of acute postoperative pain in the hospital setting. *Current medical research and opinion*, 34(7), 1179-1186.

222. Mookherjee, P., Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry*, 30(16), 2785-2791.

223. Nafziger, A. N., & Barkin, R. L. (2018). Opioid Therapy in Acute and Chronic Pain. *Journal of clinical pharmacology*, 58(9), 1111-1122.

224. Nagakura Y. (2015). Challenges in drug discovery for overcoming 'dysfunctional pain': an emerging category of chronic pain. *Expert opinion on drug discovery*, 10(10), 1043-1045.

225. Navratilova, E., & Porreca, F. (2019). Substance P and Inflammatory Pain: Getting It Wrong and Right Simultaneously. *Neuron*, 101(3), 353-355.

226. Nicholas, M., Vlaeyen, J., Rief, W., Barke, A., Aziz, Q., Benoliel, R. ... Treede, R. D. (2019). The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic primary pain. *Pain*, 160(1), 28-37.

227. Nicholas, N., & Nomoto, M. (2017). Management of neuropathic pain. *Journal of general and family medicine*, 18(2), 56-60.

228. O'Neil, M. J., Heckelman, P. E., Koch, C. B. & Roman, K. J. (2006). *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. NJ: Merck and Co.

229. Onakpoya, I. J., Thomas, E. T., Lee, J. J., Goldacre, B., & Heneghan, C. J. (2019). Benefits and harms of pregabalin in the management of neuropathic pain: a rapid review and meta-analysis of randomised clinical trials. *BMJ open*, 9(1), e023600.

230. Orr, P. M., Shank, B. C., & Black, A. C. (2017). The Role of Pain Classification Systems in Pain Management. *Critical Care Nursing Clinics of North America*, 29(4), 407-418.
231. Oshiro, M., Hefferan, M. P., Kakinohana, O., Lukacova, N., Sugahara, K., Yaksh, T. L., & Marsala, M. (2010). Suppression of stretch reflex activity after spinal or systemic treatment with AMPA receptor antagonist NGX424 in rats with developed baclofen tolerance. *British journal of pharmacology*, 161(5), 976-985.
232. Ossipov, M. H., Morimura, K., & Porreca, F. (2014). Descending pain modulation and chronification of pain. *Current opinion in supportive and palliative care*, 8(2), 143-151.
233. Palileo, C., & Kaunitz, J. D. (2011). Gastrointestinal defense mechanisms. *Current opinion in gastroenterology*, 27(6), 543-548.
234. Palmer G. M. (2016). Pain management in the acute care setting: Update and debates. *Journal of paediatrics and child health*, 52(2), 213-220.
235. Pan, H. L., Wu, Z. Z., Zhou, H. Y., Chen, S. R., Zhang, H. M., & Li, D. P. (2008). Modulation of pain transmission by G-protein-coupled receptors. *Pharmacology & therapeutics*, 117(1), 141-161.
236. Paredes, S., Cantillo, S., Candido, K. D., & Knezevic, N. N. (2019). An Association of Serotonin with Pain Disorders and Its Modulation by Estrogens. *International journal of molecular sciences*, 20(22), 5729.
237. Patil, S., Willett, O., Thompkins, T., Hermann, R., Ramanathan, S., Cornett, E. M. ... & Kaye, A. D. (2016). Botulinum Toxin: Pharmacology and Therapeutic Roles in Pain States. *Current pain and headache reports*, 20(3), 15.
238. Patrignani, P., & Patrono, C. (2015). Cyclooxygenase inhibitors: From pharmacology to clinical read-outs. *Biochimica et biophysica acta*, 1851(4), 422-432.
239. Pereira, V., & Goudet, C. (2019). Emerging Trends in Pain Modulation by Metabotropic Glutamate Receptors. *Frontiers in molecular neuroscience*, 11, 464.
240. Proschak, E., Heitel, P., Kalinowsky, L., & Merk, D. (2017). Opportunities and Challenges for Fatty Acid Mimetics in Drug Discovery. *Journal of medicinal chemistry*, 60(13), 5235-5266.

241. Raffa, R. B., Friderichs, E., Reimann, W., Shank, R. P., Codd, E. E., Vaught, J. L., Jacoby, H. I., & Selve, N. (1993). Complementary and synergistic antinociceptive interaction between the enantiomers of tramadol. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 267(1), 331-340.

242. Rai, A. S., Khan, J. S., Dhaliwal, J., Busse, J. W., Choi, S., Devereaux, P. J., & Clarke, H. (2017). Preoperative pregabalin or gabapentin for acute and chronic postoperative pain among patients undergoing breast cancer surgery: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery : JPRAS*, 70(10), 1317-1328.

243. Raja, S. N., Carr, D. B., Cohen, M., Finnerup, N. B., Flor, H., Gibson, S. ... Vader, V. (2020). The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain*, 161(9), 1976–1982.

244. Rayner, L., Hotopf, M., Petkova, H., Matcham, F., Simpson, A., & McCracken, L. M. (2016). Depression in patients with chronic pain attending a specialised pain treatment centre: prevalence and impact on health care costs. *Pain*, 157(7), 1472-1479.

245. Rice, A., Dworkin, R. H., McCarthy, T. D., Anand, P., Bountra, C., McCloud, P. I. ... Raff, M. (2014). EMA401, an orally administered highly selective angiotensin II type 2 receptor antagonist, as a novel treatment for postherpetic neuralgia: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 clinical trial. *Lancet (London, England)*, 383(9929), 1637-1647.

246. Robertson, K., Marshman, L., Plummer, D., & Downs, E. (2019). Effect of Gabapentin vs Pregabalin on Pain Intensity in Adults With Chronic Sciatica: A Randomized Clinical Trial. *JAMA neurology*, 76(1), 28-34.

247. Rosenberger, D. C., Blechschmidt, V., Timmerman, H., Wolff, A., & Treede, R. D. (2020). Challenges of neuropathic pain: focus on diabetic neuropathy. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)*, 127(4), 589-624.

248. Ruel, H., & Steagall, P. V. (2019). Adjuvant Analgesics in Acute Pain Management. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 49(6), 1127-1141.

249. Samanta, A., Hughes, T., & Moiseenkova-Bell, V. Y. (2018). Transient Receptor Potential (TRP) Channels. *Sub-cellular biochemistry*, 87, 141-165.
250. Samuelsson, B., Morgenstern, R., & Jakobsson, P. J. (2007). Membrane prostaglandin E synthase-1: a novel therapeutic target. *Pharmacological reviews*, 59(3), 207-224.
251. Sarzi-Puttini, P., Vellucci, R., Zuccaro, S. M., Cherubino, P., Labianca, R., & Fornasari, D. (2012). The appropriate treatment of chronic pain. *Clinical drug investigation*, 32 Suppl 1, 21-33.
252. Schlaier, J. R., Eichhammer, P., Langguth, B., Doenitz, C., Binder, H., Hajak, G., & Brawanski, A. (2007). Effects of spinal cord stimulation on cortical excitability in patients with chronic neuropathic pain: a pilot study. *European journal of pain (London, England)*, 11(8), 863-868.
253. Schmidt, M., Lamberts, M., Olsen, A. M., Fosboll, E., Niessner, A., Tamargo, J. ... Torp-Pedersen, C. (2016). Cardiovascular safety of non-aspirin non-steroidal anti-inflammatory drugs: review and position paper by the working group for Cardiovascular Pharmacotherapy of the European Society of Cardiology. *European heart journal*, 37(13), 1015-1023.
254. Schoep, C. L., Zeidler, M., Spiecker, L., Kern, G., Lechner, J., Kummer, K. K., & Kress, M. (2020). Selected Ionotropic Receptors and Voltage-Gated Ion Channels: More Functional Competence for Human Induced Pluripotent Stem Cell (iPSC)-Derived Nociceptors. *Brain sciences*, 10(6), 344.
255. Schou, W. S., Ashina, S., Amin, F. M., Goadsby, P. J., & Ashina, M. (2017). Calcitonin gene-related peptide and pain: a systematic review. *The journal of headache and pain*, 18(1), 34.
256. Schwab, J. M., Schluesener, H. J., Meyermann, R., & Serhan, C. N. (2003). COX-3 the enzyme and the concept: steps towards highly specialized pathways and precision therapeutics? *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids*, 69(5), 339-343.
257. Schwan, J., Sclafani, J., & Tawfik, V. L. (2019). Chronic Pain Management in the Elderly. *Anesthesiology clinics*, 37(3), 547-560.

258. Serafini, R. A., Pryce, K. D., & Zachariou, V. (2020). The Mesolimbic Dopamine System in Chronic Pain and Associated Affective Comorbidities. *Biological psychiatry*, 87(1), 64-73.
259. Sharma, C. V., Long, J. H., Shah, S., Rahman, J., Perrett, D., Ayoub, S. S., & Mehta, V. (2017). First evidence of the conversion of paracetamol to AM404 in human cerebrospinal fluid. *Journal of pain research*, 10, 2703-2709.
260. Shishkina, S. V., Ukrainets, I. V. & Petrushova, L. A. (2017). Competition between intermolecular hydrogen bonding and stacking in the crystals of 4-hydroxy-N-(pyridin-2-yl)-2,2-dioxo-1H-2_6,1-benzothiazine-3-carboxamides. *Zeitschrift fur Kristallographie – Crystalline Materials.*, 232(4), 307-316.
261. Siemian, J. N., Wang, K., Zhang, Y., & Li, J. X. (2018). Mechanisms of imidazoline I₂ receptor agonist-induced antinociception in rats: involvement of monoaminergic neurotransmission. *British journal of pharmacology*, 175(9), 1519-1534.
262. Singh, A. K., Zajdel, J., Mirrasekhian, E., Almoosawi, N., Frisch, I., Klawonn, A. M. ... Engblom, D. (2017). Prostaglandin-mediated inhibition of serotonin signaling controls the affective component of inflammatory pain. *The Journal of clinical investigation*, 127(4), 1370-1374.
263. Sommer C. (2016). Exploring pain pathophysiology in patients. *Science (New York, N.Y.)*, 354(6312), 588–592.
264. Sommer, C., Leinders, M., & Uceyler, N. (2018). Inflammation in the pathophysiology of neuropathic pain. *Pain*, 159(3), 595-602.
265. Stevens, E. B., & Stephens, G. J. (2018). Recent advances in targeting ion channels to treat chronic pain. *British journal of pharmacology*, 175(12), 2133-2137.
266. Storozhuk, M. V., Moroz, O. F., & Zholos, A. V. (2019). Multifunctional TRPV1 Ion Channels in Physiology and Pathology with Focus on the Brain, Vasculature, and Some Visceral Systems. *BioMed research international*, 2019, 5806321.

267. Suto, T., Severino, A. L., Eisenach, J. C., & Hayashida, K. (2014). Gabapentin increases extracellular glutamatergic level in the locus coeruleus via astroglial glutamate transporter-dependent mechanisms. *Neuropharmacology*, *81*, 95-100.

268. Szczesniak-Siega, B. M., Mogilski, S., Wiglusz, R. J., Janczak, J., Maniewska, J., Malinka, W., & Filipek, B. (2019). Synthesis and pharmacological evaluation of novel arylpiperazine oxycams derivatives as potent analgesics without ulcerogenicity. *Bioorganic & medicinal chemistry*, *27*(8), 1619-1628.

269. Szolcsanyi, J. (2015). Effect of capsaicin on thermoregulation: an update with new aspects. *Temperature (Austin, Tex.)*, *2*(2), 277-296.

270. Tabori, M., Alipour, M., & Esalati, H. (2013). Evaluation of Oral Tiazinidine Effects on [intraoperative] Hemodynamic Responses During Direct Laryngoscopy Under General Anesthesia. *Iranian Red Crescent medical journal*, *15*(7), 541–546.

271. Takeda, K., Sawamura, S., Tamai, H., Sekiyama, H., & Hanaoka, K. (2005). Role for cyclooxygenase 2 in the development and maintenance of neuropathic pain and spinal glial activation. *Anesthesiology*, *103*(4), 837-844.

272. Thacker H. P. (2007). S-amlodipine--the 2007 clinical review. *Journal of the Indian Medical Association*, *105*(4), 180-182.

273. Thomas, A. M., & Atkinson, T. J. (2018). Old Friends With New Faces: Are Sodium Channel Blockers the Future of Adjunct Pain Medication Management?. *The journal of pain*, *19*(1), 1-9.

274. Thorn, D. A., Zhang, Y., & Li, J. X. (2017). Tolerance and cross-tolerance to the antinociceptive effects of oxycodone and the imidazoline I₂ receptor agonist phenzoline in adult male rats. *Psychopharmacology*, *234*(12), 1871-1880.

275. Toczek, M., & Malinowska, B. (2018). Enhanced endocannabinoid tone as a potential target of pharmacotherapy. *Life sciences*, *204*, 20-45.

276. Toda K. (2019). Pure nociceptive pain is very rare. *Current medical research and opinion*, *35*(11), 1991.

277. Todd A. J. (2010). Neuronal circuitry for pain processing in the dorsal horn. *Nature reviews. Neuroscience*, 11(12), 823-836.

278. Tolstikov, G. A., Dembitskii, V. M., Tolstikova, T. G. & Shults, E. E. (2003). Epibatidine and problem of non-opioid analgesics. In: Kartsev V.G. (ed.) *Selected Methods for Synthesis and Modification of Heterocycles. Vol. 1* (418-449). Moscow: IBS PRESS.

279. Toma, W., Ulker, E., Alqasem, M., AlSharari, S. D., McIntosh, J. M., & Damaj, M. I. (2020). Behavioral and Molecular Basis of Cholinergic Modulation of Pain: Focus on Nicotinic Acetylcholine Receptors. *Current topics in behavioral neurosciences*, 45, 153-166.

280. Tong, C. K., & MacDermott, A. B. (2006). Both Ca²⁺-permeable and -impermeable AMPA receptors contribute to primary synaptic drive onto rat dorsal horn neurons. *The Journal of physiology*, 575(Pt 1), 133-144.

281. Treede, R. D., Rief, W., Barke, A., Aziz, Q., Bennett, M. I., Benoliel, R. ... Wang, S. J. (2019). Chronic pain as a symptom or a disease: the IASP Classification of Chronic Pain for the International Classification of Diseases (ICD-11). *Pain*, 160(1), 19-27.

282. Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455-461.

283. Turan Yucel, N., Kandemir, U., Demir Ozkay, U., & Can, O. D. (2021). 5-HT_{1A} Serotonergic, α -Adrenergic and Opioidergic Receptors Mediate the Analgesic Efficacy of Vortioxetine in Mice. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(11), 3242.

284. Ukrainets, I. V., Bereznyakova, N. L., Sim, G., & Davidenko, A. A. (2018). Synthesis, structure, and analgesic activity of picolylamides of 2-hydroxy-4-oxo-4H-pyrido[1,2-a]pyrimidine-3-carboxylic acids. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 52, 601-605.

285. Ukrainets, I. V., Burian, A. A., Hamza, G. M., Voloshchuk, N. I. & Malchenko, O. V. (2018). *N*-benzyl-4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ6,1-benzo-thiazine-3-carboxamides as new analgesic and anti-inflammatory agents, 8th International

Conference “Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles” in memoriam of Prof. Valeriy Orlov (12-16 November, 2018). Kharkiv.

286. Ukrainets, I. V., Burian, A. A., Hamza, G. M., Voloshchuk, N. I., Malchenko, O. V., Shishkina, S. V. ... Sim, G. (2019). Synthesis and Regularities of the Structure–Activity Relationship in a Series of N-Pyridyl-4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamides. *Scientia Pharmaceutica*, 87(2), 12.

287. Ukrainets, I. V., Davidenko, A. A., Mospanova, E. V., Sidorenko, L. V., & Svechnikova, E. N. (2010). 4-Hydroxy-2-quinolones. 176. 4-R-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids. Synthesis, physicochemical and biological properties. *Chemistry of Heterocyclic Compounds.*, 46, 559-568.

288. Ukrainets, I. V., Gorokhova, O. V., Jaradat, N. A., Petrushova, L. A., Mospanova, E. V., Savchenkova, L. V. ... Lyahovsky, A. V. (2014). 4-Hydroxyquinolin-2-ones and their close structural analogues as a new source of highly effective pain-killer. In Racz, G. B., Noe, C. E. (Edts.), *Pain and Treatment* (Chapter 2). (pp. 21-73).

289. Ukrainets, I. V., Hamza, G. M., Burian, A. A., Shishkina, S. V., Voloshchuk, N. I. & Malchenko, O. V. (2018). 4-Methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxylic Acid. Peculiarities of Preparation, Structure, and Biological Properties. *Scientia Pharmaceutica.*, 86(1), 9.

290. Ukrainets, I. V., Hamza, G. M., Burian, A. A., Voloshchuk, N. I., Malchenko, O. V., Shishkina, S. V. ... Sim, G. (2018). Molecular Conformations and Biological Activity of N-Hetaryl(aryl)alkyl-4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamides. *Scientia Pharmaceutica*, 86(4), 50.

291. Ukrainets I. V., Hamza, G. M., Burian, A. A., Voloshchuk, N. I., Malchenko, O. V., Shishkina, S. V. ... Sim, G. (2019). The Crystal Structure of N-(1-Arylethyl)-4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamides as the Factor Determining Biological Activity Thereof. *Scientia Pharmaceutica*, 87(2), 10.

292. Ukrainets, I. V., Mospanova, E. V., & Davidenko, A. A. (2016). Using bioisosteric replacements to enhance the analgesic properties of 4-hydroxy-6,7-

dimethoxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxamides. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 50, 365-368.

293. Ukrainets, I.V., Mospanova, E. V. Savchenkova, L.V., & Yankovich, S. I. (2011). 4-Hydroxy-2-quinolones. 195. Synthesis of novel, potential analgesics based on 4-(hetarylmethyl)amino-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 47, 67-73.

294. Ukrainets, I. V., Petrushova, L. A., Dzyubenko, S. P., & Liu, Y. (2014). 2,1-Benzothiazine 2,2-dioxides. 4. Synthesis, structure, and analgesic properties of 4-hydroxy-1-methyl-2,2-dioxo-N-(pyridin-2-yl)-1H-2_6,1-benzothiazine-3-carboxamides. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 50, 564-572.

295. Ukrainets, I.V., Petrushova, L.A., Dzyubenko, S.P. & Liu, Y.Y. (2014). 2,1-Benzothiazine 2,2-dioxides. 5. Hydrolysis of alkyl 1-R-4-hydroxy-2,2-dioxo-1H-2_6,1-benzothiazine-3-carboxylate. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 50, 1047-1052.

296. Urits, I., Li, N., Bahrun, E., Hakobyan, H., Anantuni, L., An, D. ... Viswanath, O. (2020). An evidence-based review of CGRP mechanisms in the propagation of chronic visceral pain. *Best practice & research. Clinical anaesthesiology*, 34(3), 507-516.

297. Villarinho, J. G., Fachineto, R., de Vargas Pinheiro, F., da Silva Sant'Anna, G., Machado, P., Dombrowski, P. A. ... Ferreira, J. (2012). Antidepressant-like effect of the novel MAO inhibitor 2-(3,4-dimethoxy-phenyl)-4,5-dihydro-1H-imidazole (2-DMPI) in mice. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 39(1), 31-39.

298. Vogel, H. G. (2008). *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays* (pp. 1103-1106). Berlin: Springer.

299. Volkow, N. D., & McLellan, A. T. (2016). Opioid Abuse in Chronic Pain--Misconceptions and Mitigation Strategies. *The New England journal of medicine*, 374(13), 1253-1263.

300. Voloshchuk, N. I., Taran, I. V., & Mel'nik, A. V. (2015). Vascular mechanism in the diclophenac induced gastrotoxicity: the association with the level of hydrogen sulfide. *Curierul medical*, 58(1), 7-11

301. Voloshchuk, N., Taran, I., Pashynska, O., Melnyk, A., & Magdebura, S. (2020). The role of hydrogen sulfide in gastrointestinal tract functioning. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 1(33), 45-50.

302. Wager, J., Brown, D., Kupitz, A., Rosenthal, N., & Zernikow, B. (2020). Prevalence and associated psychosocial and health factors of chronic pain in adolescents: Differences by sex and age. *European journal of pain (London, England)*, 24(4), 761-772.

303. Wallace, J. L., Vaughan, D., Dickey, M., MacNaughton, W. K., & de Nucci, G. (2018). Hydrogen Sulfide-Releasing Therapeutics: Translation to the Clinic. *Antioxidants & redox signaling*, 28(16), 1533-1540.

304. Wang, J. L., Limburg, D., Graneto, M. J., Springer, J., Hamper, J. R., Liao, S. ... Carter, J. (2010). The novel benzopyran class of selective cyclooxygenase-2 inhibitors. Part 2: the second clinical candidate having a shorter and favorable human half-life. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 20(23), 7159-7163.

305. Warner, T. D., & Mitchell, J. A. (2004). Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 18(7), 790-804.

306. Waxman, S. G., Merkies, I., Gerrits, M. M., Dib-Hajj, S. D., Lauria, G., Cox, J. J. ... Faber, C. G. (2014). Sodium channel genes in pain-related disorders: phenotype-genotype associations and recommendations for clinical use. *The Lancet. Neurology*, 13(11), 1152-1160.

307. Wermeling, D. P., Grant, G. M., Lee, A., Alexander, N., & Rudy, A. C. (2005). Analgesic effects of intranasal butorphanol tartrate administered via a unit-dose device in the dental impaction pain model: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study. *Clinical therapeutics*, 27(4), 430-440.

308. Wiffen, P. J., Derry, S., Moore, R. A., & Kalso, E. A. (2014). Carbamazepine for chronic neuropathic pain and fibromyalgia in adults. *The Cochrane database of systematic reviews*, 2014(4), CD005451.
309. Wilcox, C. E., Mayer, A. R., Teshiba, T. M., Ling, J., Smith, B. W., Wilcox, G. L., & Mullins, P. G. (2015). The Subjective Experience of Pain: An FMRI Study of Percept-Related Models and Functional Connectivity. *Pain medicine*, 16(11), 2121-2133.
310. Wu, L., Huang, X., & Sun, L. (2015). The efficacy of N-methyl-D-aspartate receptor antagonists on improving the postoperative pain intensity and satisfaction after remifentanyl-based anesthesia in adults: a meta-analysis. *Journal of clinical anesthesia*, 27(4), 311-324.
311. Xu, S., Hermanson, D. J., Banerjee, S., Ghebreselasie, K., Clayton, G. M., Garavito, R. M., & Marnett, L. J. (2014). Oxicams bind in a novel mode to the cyclooxygenase active site via a two-water-mediated H-bonding Network. *The Journal of biological chemistry*, 289(10), 6799-6808.
312. Xu, S., Rouzer, C. A., & Marnett, L. J. (2014). Oxicams, a class of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and beyond. *IUBMB life*, 66(12), 803-811.
313. Yaksh, T. L., Schwarcz, R., & Snodgrass, H. R. (2017). Characterization of the Effects of L-4-Chlorokynurenine on Nociception in Rodents. *The journal of pain*, 18(10), 1184-1196.
314. Yam, M. F., Loh, Y. C., Tan, C. S., Khadijah Adam, S., Abdul Manan, N., & Basir, R. (2018). General Pathways of Pain Sensation and the Major Neurotransmitters Involved in Pain Regulation. *International journal of molecular sciences*, 19(8), 2164
315. Yamamotova A. (2019). Endogenous antinociceptive system and potential ways to influence It. *Physiological research*, 68(Suppl 3), S195-S205.
316. Yamashita, T., Yamamoto, S., Zhang, J., Kometani, M., Tomiyama, D., Kohno, K. ... Tsuda, M. (2016). Duloxetine Inhibits Microglial P2X4 Receptor Function and Alleviates Neuropathic Pain after Peripheral Nerve Injury. *PloS one*, 11(10), e0165189.

317. Yang, F., Xiao, X., Cheng, W., Yang, W., Yu, P., Song, Z. ... Zheng, J. (2015). Structural mechanism underlying capsaicin binding and activation of the TRPV1 ion channel. *Nature chemical biology*, *11*(7), 518-524.

318. Yekkirala, A. S., Roberson, D. P., Bean, B. P., & Woolf, C. J. (2017). Breaking barriers to novel analgesic drug development. *Nature reviews. Drug discovery*, *16*(8), 545-564.

319. Yoshida, K., Nishizawa, D., Ide, S., Ichinohe, T., Fukuda, K. I., & Ikeda, K. (2018). A pharmacogenetics approach to pain management. *Neuropsychopharmacology reports*, *38*(1), 2-8.

320. Young, G. T., Broad, L. M., Zwart, R., Astles, P. C., Bodkin, M., Sher, E., & Millar, N. S. (2007). Species selectivity of a nicotinic acetylcholine receptor agonist is conferred by two adjacent extracellular beta4 amino acids that are implicated in the coupling of binding to channel gating. *Molecular pharmacology*, *71*(2), 389-397.

321. Yurovskaya, Ì.A. & Kurkin, A.V. (2011). *Some aspects of the relationship between chirality and biological activity. In Proceedings of the Synthesis and Complexation Achievements*, Materials of the all-Russian Scientific Conference with International Participation, Dedicated to the International Year of Chemistry. Moscow.

322. Yuxiang, L., Lingjun, Z., Lu, T., Mengjie, L., Xing, M., Fengping, S., Jing, C., Xianli, M., & Jijun, Z. (2012). Burn patients' experience of pain management: a qualitative study. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*, *38*(2), 180-186.

323. Zajączkowska, R., Mika, J., Leppert, W., Kocot-Kępska, M., Malec-Milewska, M., & Wordliczek, J. (2021). Mirogabalin-A Novel Selective Ligand for the $\alpha 2\delta$ Calcium Channel Subunit. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, *14*(2), 112.

324. Zamponi G. W. (2016). Targeting voltage-gated calcium channels in neurological and psychiatric diseases. *Nature reviews. Drug discovery*, *15*(1), 19-34.

325. Zamponi, G. W., Striessnig, J., Koschak, A., & Dolphin, A. C. (2015). The Physiology, Pathology, and Pharmacology of Voltage-Gated Calcium Channels and Their Future Therapeutic Potential. *Pharmacological reviews*, 67(4), 821-870.
326. Zanata, G. C., Pinto, L. G., da Silva, N. R., Lopes, A., de Oliveira, F., Schivo, I. ... Silva, R. L. (2021). Blockade of bradykinin receptors or angiotensin II type 2 receptor prevents paclitaxel-associated acute pain syndrome in mice. *European journal of pain (London, England)*, 25(1), 189-198.
327. Zhou, Y. Q., Liu, Z., Liu, Z. H., Chen, S. P., Li, M., Shahveranov, A. ... Tian, Y. K. (2016). Interleukin-6: an emerging regulator of pathological pain. *Journal of neuroinflammation*, 13(1), 141.
328. Zhu, X., & Eisenach, J. C. (2003). Cyclooxygenase-1 in the spinal cord is altered after peripheral nerve injury. *Anesthesiology*, 99(5), 1175-1179.
329. Zieglgansberger W. (2019). Substance P and pain chronicity. *Cell and tissue research*, 375(1), 227-241.
330. Zulazmi, N. A., Gopalsamy, B., Min, J. C., Farouk, A. A., Sulaiman, M. R., Bharatham, B. H., & Perimal, E. K. (2017). Zerumbone Alleviates Neuropathic Pain through the Involvement of l-Arginine-Nitric Oxide-cGMP-K⁺ ATP Channel Pathways in Chronic Constriction Injury in Mice Model. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(4), 555.

ДОДАТКИ

Додаток А

НАУКОВІ ПРАЦІ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ
РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації.

1. Malchenko O. V. Investigation of 4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamide derivative influence on the biochemical markers of gastric mucosa in rats / O. V. Malchenko, N. I. Voloshchuk, N. O. Pentuk // Biomedical and biosocial anthropology. - 2020. - № 41. – P. 36-40 DOI: <https://doi.org/10.31393/bba41-2020-06>. *(Здобувач здійснила опрацювання літературних джерел, моделювання та проведення експерименту, статистичну обробку отриманих даних, формування висновків та узагальнення, підготовка, оформлення статті виконано у співавторстві).*

2. Мальченко О. В. Експериментальне дослідження механізмів анагезуючої дії похідного 4-метил-2,2-діксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполука NІ-9) у щурів / О. В. Мальченко, Н. І. Волощук, О. В. Грималовська // Вісник Вінницького Національного медичного університету імені М. І. Пирогова. - 2021. - №1 (25). - С. 12-17 DOI:10.31393/reports-vnmedical-2021-25(1)-02. *(Дисертант аналізувала літературні джерела, особисто здійснювала експериментальну частину, статистичну обробку отриманих даних, у співавторстві аналізувала отримані результати та формулювала висновки).*

Malchenko O. V. In-depth investigation of analgesic activity of N-(4-methoxybenzyl)-4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamide derivate on different models of pain perception / O. V. Malchenko // Biomedical and biosocial anthropology. - 2021. - № 42. – P. 57-63. DOI: 10.31393/bba42-2021-10.

3. Malchenko O. V. 4-Methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxylic Acid. Peculiarities of Preparation, Structure, and Biological Properties / I. V. Ukrainets, G. M. Hamza, A. A. Burian, S. V. Shishkina, N. I. Voloshchuk, O. V. Malchenko // Sci. Pharm. – 2018. – Vol. 86, №1. - 9. – URL: <https://doi.org/10.3390/scipharm86010009> (Last accessed: 02.05.2021). *(Видання включено до бази даних Scopus та Web of Science. Дисертантом особисто виконала експериментальну частину щодо анагетичної та протизапальної активності хімічних сполук, написання та оформлення статті виконано у співавторстві).*

4. Molecular Conformations and Biological Activity of N-Hetaryl(aryl)alkyl-4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamides / I. V. Ukrainets, G. M. Hamza et al. // Sci. Pharm. – 2018. – Vol. 86, №4. - 50.– URL: <https://doi.org/10.3390/scipharm86040050> (Last accessed: 03.05.2021). *(Видання включено до бази даних Scopus та Web of Science. Дисертант особисто провела всі експериментальні дослідження біологічної активності сполук, статистичний аналіз та узагальнення матеріалу, написання та оформлення статті виконано у співавторстві).*

5. The Crystal Structure of N-(1-Arylethyl)-4-methyl- 2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamides as the Factor Determining Biological Activity Thereof / I. V. Ukrainets, G. M. Hamza, A. A. Burian et al. // Sci. Pharm. – 2019. – Vol. 87, № 2. - 10. - URL: <https://doi.org/10.3390/scipharm87020010> (Last accessed: 12.05.2021). *(Видання включено до бази даних Scopus та Web of Science. Дисертантом особисто проведено дослідження фармакологічної активності бензотіазин-3-карбоксамідів, оброблено отримані дані, написання та оформлення статті виконано у співавторстві).*

6. Synthesis and Regularities of the Structure–Activity Relationship in a Series of N-Pyridyl-4-methyl-2,2- dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamides / I. V. Ukrainets, A. A. Burian, G. M. Hamza et al. // Sci. Pharm. – 2019. – Vol. 87, № 2. - 12. – URL: <https://doi.org/10.3390/scipharm87020012> (Last accessed: 02.06.2021). *(Видання включено до бази даних Scopus та Web of Science.*

Дисертантом особисто проведено виконання досліджень біологічної активності сполук, що досліджувались, обробка отриманих результатів, написання та оформлення статті виконано у співавторстві).

НАУКОВІ ПРАЦІ, ЯКІ ЗАСВІДЧУЮТЬ АПРОБАЦІЮ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Українець І. В. Скринінгові дослідження протизапальної та знеболюючої активності похідних N-г-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду / І. В. Українець, Н. І. Волощук, О. В. Мальченко // Тези доповідей V Національного з'їзду фармакологів України (18-20 жовтня 2017 р., м. Запоріжжя). – Запоріжжя, 2017. – С. 19. (*Дисертант брала участь в експериментальних дослідженнях, аналізі та узагальненні отриманих даних, написання тез виконано у співавторстві. Форма участі – публікація тез*).

2. Особливості синтезу та просторової будови 4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти / І. В. Українець, Г. М. Хамза, Г. О. Бур'ян, О. В. Мальченко // Тези доповідей Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій», присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича (12-13 квітня 2018 р., м. Харків). - Харків, 2018. - С. 121-122. (*Здобувачу належить аналіз даних літератури, постановка експерименту, статистична обробка та описання отриманих результатів, оформлення та подача тез до друку. Форма участі: усна доповідь, публікація тез*).

3. Malchenko O. V. Peculiarities of structure and pharmacological properties of 4-Methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxylic acid / O. V. Malchenko // Матеріали XV Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку-2018» (18-20 квітня 2018 р., м. Вінниця). – Вінниця, 2018. - С. 436. (*Форма участі: усна доповідь, публікація тез*).

4. N-benzyl-4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzo-thiazine-3 carboxamides as new analgesic and anti-inflammatory agents / I. V. Ukrainets, A. A. Burian, G. M. Hamza, N. I. Voloshchuk, O. V. Malchenko // 8th International Conference “Chemistry of Nitrogen Containing Heterocycles” in memoriam of Prof. Valeriy Orlov (12-16 November, 2018 Kharkiv, Ukraine). - CNCH-2018. Book of Abstracts. - Kharkiv, 2018. - P. 147. (*Дисертант особисто виконала експериментальні*

дослідження, їх статистичну обробку, написання тез виконано у співавторстві. **Форма участі:, публікація тез).**

5. Мальченко О. В. Експериментальне дослідження гострої токсичності та середньої ефективної дози N-піридил-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду / О. В. Мальченко // Матеріали XVIII Наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку-2021» (15-17 квітня 2021 р., м. Вінниця). – Вінниця, 2021. - С. 507 (**Форма участі: усна доповідь, публікація тез).**

Додаток Б

Акти впровадження

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Запорізького державного медичного
університету



проф. В.А. Візір
_____ 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** аналгетичні властивості метоксибензиламід у 4-метил-2,2-діксо-1Н-2λ6,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполуки NI-9).
 2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, аспірантка Мальченко Оксана Володимирівна, професор Волощук Наталія Іванівна.
 3. **Джерела інформації:**
 1. Malchenko, O. V. Molecular Conformations and Biological Activity of N-Hetaryl(aryl)alkyl-4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamides / I. V. Ukrainets, G. M. Hamza, A. A. Burian et al. // Sci. Pharm. – 2018. – Vol. 86, №4. – 50.– URL: <https://doi:10.3390/scipharm86040050>.
 2. Мальченко, О. В. Експериментальне дослідження механізмів аналгезуючої дії похідного 4-метил-2,2-діксо-1Н-2λ6,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполука NI-9) у щурів / О. В. Мальченко, Н. І. Волощук, О. В. Грималовська // Вісник Вінницького Національного медичного університету імені М. І. Пирогова. - 2021. - №1 (25). - С. 12-17.
 4. **Де і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медичного університету з «4» 01 2021 р.
 5. **Результат впровадження:** поглиблення знань щодо антиноціцептинних властивостей нової оригінальної сполуки - метоксибензиламід у 4-метил-2,2-діксо-1Н-2λ6,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполуки NI-9). Результати наукових досліджень Мальченко О.В. демонструють аналгетичні та протизапальні властивості сполуки NI-9 на різних моделях больової перцепції та розкривають основні механізми її дії. Використання результатів наведених наукових досліджень дозволить розширити знання студентів про нові розробки перспективних аналгетичних та протизапальних засобів.
 6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
- Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медичного університету протокол № 8 від «13» квітня 2021 р.

Відповідальний за впровадження:

зав. кафедри фармакології та
медичної рецептури з курсом нормальної фізіології
Запорізького державного медичного
університету, професор

І.Ф. Беленічев

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор Вінницького національного
медичного університетуім. М.І. Пирогова,
акад. НАМНУ, д. мед. н., проф.

В.М. Мороз

2021 р.




АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** аналгетичні властивості метоксибензиламідів 4-метил-2,2-діксо-1Н-2λ6,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполуки NI-9).
 2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, аспірантка Мальченко Оксана Володимирівна, професор Волощук Наталія Іванівна.
 3. **Джерела інформації:**
 1. Malchenko, O. V. Molecular Conformations and Biological Activity of N-Hetaryl(aryl)alkyl-4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamides / I. V. Ukrainets, G. M. Hamza, A. A. Burian et al. // Sci. Pharm. – 2018. – Vol. 86, №4. – 50.– URL: <https://doi:10.3390/scipharm86040050>.
 2. Мальченко, О. В. Експериментальне дослідження механізмів аналгезуючої дії похідного 4-метил-2,2-діксо-1Н-2λ6,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполука NI-9) у щурів / О. В. Мальченко, Н. І. Волощук, О. В. Грималовська // Вісник Вінницького Національного медичного університету імені М. І. Пирогова. - 2021. - №1 (25). - С. 12-17.
 4. **Де і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова з «18» 05 2021 р.
 5. **Результат впровадження:** поглиблення знань щодо антиноціцептичних властивостей нової оригінальної сполуки - метоксибензиламідів 4-метил-2,2-діксо-1Н-2λ6,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполуки NI-9). Результати наукових досліджень Мальченко О.В. демонструють аналгетичні та протизапальні властивості сполуки NI-9 на різних моделях больової перцепції та розкривають основні механізми її дії. Використання результатів наведених наукових досліджень дозволить розширити знання студентів про нові розробки перспективних аналгетичних та протизапальних засобів.
 6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
- Обговорено та затверджено на засіданні кафедри біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова протокол № 17 від «18» 05 2021 р.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри біологічної та загальної хімії
Вінницького національного медичного університету
ім. М.І. Пирогова
д. мед.н., проф.


 Н.В. Заїчко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Заступник директора з наукової роботи
Фізико-хімічного інституту
ім. О.В. Богатського НАН України
д.б.н., професор І.І. Романовська



2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Пошук нових аналгетиків серед N-арил(гетарил)-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксамідів та їх структурно близьких аналогів

2. Установа, її адреса, виконавці: кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, аспірантка Мальченко Оксана Володимирівна, професор Волошук Наталія Іванівна.

3. Джерела інформації:

1. Malchenko, O. V. Molecular Conformations and Biological Activity of N-Hetaryl(aryl)alkyl-4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamides / I. V. Ukrainets, G. M. Hamza, A. A. Burian et al. // Sci. Pharm. – 2018. – Vol. 86, №4. - 50.
2. Malchenko, O. V. Investigation of 4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamide derivative influence on the biochemical markers of gastric mucosa in rats / O. V. Malchenko, N. I. Voloshchuk, N. O. Pentiuk // Biomedical and biosocial anthropology. - 2020. - № 41. – P. 36-40
3. Мальченко, О. В. Експериментальне дослідження механізмів аналгезуючої дії похідного 4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполука NI-9) у щурів / О. В. Мальченко, Н. І. Волошук, О. В. Грималовська // Вісник Вінницького Національного медичного університету імені М. І. Пирогова. - 2021. - №1 (25). - С. 12-17.

4. Де і коли впроваджено: у науковий процес лабораторії фізико-хімічної фармакології з „№ 2 від „ 26 ” травня 2021 р.

5. Результат впровадження: Отримана інформація свідчить, що серед похідних N-R-4-метил-2,2-діоксо-1H-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду отримано сполуки, які заслуговують на поглиблене вивчення як потенційні протизапальні агенти з вираженими аналгетичними властивостями. Зокрема, метоксибензиламід похідне бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполука NI-9) продемонструвала виразні аналгетичні властивості на різних моделях больової перцепції, які не пов'язані із опіоїдним механізмом її дії та виявилась більш ефективною та безпечною щодо шлунка в порівнянні з мелоксикамом та диклофенаком.

6. Ефективність впровадження за критеріями, викладеними в джерелі інформації (п.3) Поглиблення знань про фармакодинаміку похідних карбоксаміду з різними хімічними замісниками.

7. Зауваження та пропозиції: не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні лабораторії фізико-хімічної фармакології, протокол № 2 від „ 26 ” травня 2021 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач лабораторії фізико-хімічної фармакології,
д.біол.наук

В.Б. Ларіонов

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Тернопільського національного медичного
університету імені І.Я. Горбачевського
МОЗ України

д.біол.н., проф. М. Кліш



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** аналгетичні властивості метоксibenзиламиду 4-метил-2,2-діксо-1Н-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполуки NI-9).
 2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, аспірантка Мальченко Оксана Володимирівна, професор Волошук Наталія Іванівна.
 3. **Джерела інформації:**
 1. Malchenko, O. V. Molecular Conformations and Biological Activity of N-Hetaryl(aryl)alkyl-4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamides / I. V. Ukrainets, G. M. Hamza, A. A. Burian et al. // Sci. Pharm. – 2018. – Vol. 86, №4. – 50.– URL: <https://doi:10.3390/scipharm86040050>.
 2. Мальченко, О. В. Експериментальне дослідження механізмів аналгезуючої дії похідного 4-метил-2,2-діксо-1Н-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполука NI-9) у щурів / О. В. Мальченко, Н. І. Волошук, О. В. Грималовська // Вісник Вінницького Національного медичного університету імені М. І. Пирогова. - 2021. - №1 (25). - С. 12-17.
 4. **Де і коли впроваджено** у науково-педагогічний процес кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського з «1» вересня 2021 р.
 5. **Результат впровадження:** поглиблення знань щодо антиноціцептинних властивостей нової оригінальної сполуки - метоксibenзиламиду 4-метил-2,2-діксо-1Н-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполуки NI-9). Результати наукових досліджень Мальченко О.В. демонструють аналгетичні та протизапальні властивості сполуки NI-9 на різних моделях больової перцепції та розкривають основні механізми її дії. Використання результатів наведених наукових досліджень дозволить розширити знання студентів про нові розробки перспективних аналгетичних та протизапальних засобів.
 6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
- Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського протокол № 5 від «13» травня 2021 р.

Відповідальний за впровадження:

зав. кафедри фармакології з клінічною фармакологією
Тернопільського національного медичного університету
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України
д. мед. н., проф.

О.М. Олещук

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково педагогічної
роботи Національного фармацевтичного
університету

доц. Федосов А.І.

05 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** аналгетичні властивості метоксибензиламиду 4-метил-2,2-діксо-1Н-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполуки NI-9).

2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, аспірантка Мальченко Оксана Володимирівна, професор Волошук Наталія Іванівна.

3. **Джерела інформації:**

1. Malchenko, O. V. Molecular Conformations and Biological Activity of N-Hetaryl(aryl)alkyl-4-methyl-2,2-dioxo-1H-2λ⁶,1-benzothiazine-3-carboxamides / I. V. Ukrainets, G. M. Hamza, A. A. Burian et al. // Sci. Pharm. – 2018. – Vol. 86, №4. – 50.– URL: <https://doi:10.3390/scipharm86040050>.

2. Мальченко, О. В. Експериментальне дослідження механізмів аналгезуючої дії похідного 4-метил-2,2-діксо-1Н-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполука NI-9) у щурів / О. В. Мальченко, Н. І. Волошук, О. В. Грималовська // Вісник Вінницького Національного медичного університету імені М. І. Пирогова. - 2021. - №1 (25). - С. 12-17.

4. **Де і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри фармакології та фармакотерапії Національного фармацевтичного університету з «18» травня 2021 р.

5. **Результат впровадження:** поглиблення знань щодо антиноціцептичних властивостей нової оригінальної сполуки - метоксибензиламиду 4-метил-2,2-діксо-1Н-2λ⁶,1-бензотіазин-3-карбонової кислоти (сполуки NI-9). Результати наукових досліджень Мальченко О.В. демонструють аналгетичні та протизапальні властивості сполуки NI-9 на різних моделях больової перцепції та розкривають основні механізми її дії. Використання результатів наведених наукових досліджень дозволить розширити знання студентів про нові розробки перспективних аналгетичних та протизапальних засобів.

6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології та фармакотерапії Національного фармацевтичного університету протокол №21 від «18» травня 2021 р.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри фармакології та фармакотерапії
Національного фармацевтичного університету
д. мед.н., проф.

С.Ю. Штриголь