

УДК 615.212.017:615.276

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2025-2-66-73>

Противовоспалительный эффект и возможный механизм действия анальгетика этовюрцина из класса гексаазаизовюрцитанов

Крылова С.Г.¹, Киселева Е.А.¹, Кулагина Д.А.², Еремина В.В.², Шерстобоев Е.Ю.¹, Лигачева А.А.¹, Рыбалкина О.Ю.¹, Зуева Е.П.¹, Сысолятин С.В.², Жданов В.В.¹

¹ Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины им. (НИИФирМ) Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3

² Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН)
Россия, 659322, Алтайский край, г. Бийск, ул. Социалистическая, 1

РЕЗЮМЕ

Цель: изучение противовоспалительного и гастропротективного действия этовюрцина в сравнении с диклофенаком на модели хронического воспаления; исследование его влияния на продукцию оксида азота.

Материалы и методы. Объект исследования – впервые синтезированный этовюрцин из класса гексаазаизовюрцитанов с приемлемым профилем безопасности.

Гастрозащитное и противовоспалительное действие этовюрцина в сравнении с диклофенаком исследовали на модели хронического воспаления у 69 самок крыс стока SD. Вещество (12,5–100 мг/кг) и нестероидное противовоспалительное средство (НПВС) (5 мг/кг) вводили *per os* в течение 7 сут, начиная за 1 ч до подкожной имплантации ватного тампона. На 8-й сут эксперимента оценивали пролиферативную (%) и экссудативную реакцию (%), ulcerогенное действие веществ.

На модели воспаления *in vitro* продукцию оксида азота (NO) макрофагами (МФ), полученную из перитонимальной полости 25 мышей линии C57Bl/6, оценивали по концентрации нитритов в супернатанте клеток после 48-часового культивирования в присутствии различных концентраций этовюрцина и (или) липополисахарида (ЛПС). Влияние этовюрцина на пролиферацию макрофагов определяли в тесте MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, Sigma, США)) в лизате МФ.

Результаты. Сравнительное исследование этовюрцина и диклофенака на модели хронического воспаления у крыс выявило преимущественное антиэкссудативное действие вещества при сравнимом с НПВС подавляющем влиянии на пролиферацию грануляционной ткани.

В слизистой оболочке желудка у крыс, получавших этовюрцин, не обнаружено язвенных повреждений. Напротив, у 30% животных, получавших диклофенак, тяжесть ulcerогенного повреждения составила 2 балла. На модели воспаления *in vitro* внесение этовюрцина в различных концентрациях совместно с ЛПС снижало выработку оксида азота, а при использовании высоких доз вещества наблюдалось статистически значимое уменьшение продукции NO по сравнению с группой применения ЛПС. Однако использование этовюрцина совместно с ЛПС не оказывало статистически значимого влияния на пролиферацию макрофагов относительно группы применения ЛПС.

Заключение. Сравнительное исследование противовоспалительного действия впервые синтезированного этовюрцина на модели хронического воспаления у крыс выявило его преимущественную активность относительно диклофенака и отсутствие гастротоксичности. Полученные результаты свидетельствуют об его альтернативном механизме противовоспалительного действия, не связанном с ингибированием циклооксигеназы. Подавление выработки оксида азота может быть одним из механизмов его противовоспалительного действия.

✉ Крылова Светлана Геннадьевна, krylova5935@gmail.com

Ключевые слова: гексаазаизовюрцитан, этовюрцин, воспаление, гастротоксичность, оксид азота

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

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках реализации темы государственного задания (122020200058-6) «Поиск, разработка и изучение механизмов действия синтетических и природных биологически активных субстанций, полученных, в том числе, на основе биотехнологий, для фармакологической коррекции различных патологических процессов».

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено комиссией по биоэтике НИИФирМ им. Е.Д. Гольдберга (протокол JACUC № 19212021 от 21.12.2021).

Для цитирования: Крылова С.Г., Киселева Е.А., Кулагина Д.А., Еремина В.В., Шерстобоев Е.Ю., Лигачева А.А., Рыбалкина О.Ю., Зуева Е.П., Сысолятин С.В., Жданов В.В. Противовоспалительный эффект и возможный механизм действия анальгетика этовюрцина из класса гексаазаизовюрцитанов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2025;24(2):66–73. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2025-2-66-73>.

Anti-inflammatory effect and a possible mechanism of action of ethowurtzine from the class of hexaazaizowurtzitane derivatives

Krylova S.G.¹, Kiseleva E.A.¹, Kulagina D.A.², Eremina V.V.², Sherstoboev E.Yu.¹, Ligacheva A.A.¹, Rybalkina O.Yu.¹, Zueva E.P.¹, Sysolyatin S.V.², Zhdanov V.V.¹

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

² Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies, Siberian Branch
1 Sotsialisticheskaya St., 659322 Biysk, Altai Territory, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To assess the anti-inflammatory and gastroprotective effects of ethowurtzine compared to the reference drug diclofenac in a rat model of chronic inflammation; to evaluate the influence of ethowurtzine on nitric oxide production as a possible mechanism of its anti-inflammatory effects.

Materials and methods. The object of the study was a new patented ethowurtzine from the class of hexaazaizowurtzitane derivatives with an acceptable safety profile.

The gastroprotective and anti-inflammatory effects of ethowurtzine compared to diclofenac were studied in a model of chronic inflammation using 69 female SD rats. The compound (12.5–100 mg / kg) and a non-selective COX inhibitor diclofenac (5 mg / kg) were administered intragastrically for 7 days, 1 hour before subcutaneous implantation of a cotton swab. On day 8, the proliferative response (%), the exudative response (%), and the ulcerogenic effect of the compounds were assessed.

Nitric oxide (NO) synthesis by macrophages obtained from peritoneal cavity of 25 C57Bl/6 mice (*in vitro* inflammation model) was evaluated by the concentration of nitrites in the cell supernatant after incubating cells in the presence of ethowurtzine and / or lipopolysaccharide (LPS) for 48 hours. The classical MTT test (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, Sigma, USA)) was used to assess the effects of ethowurtzine on macrophage proliferation.

Results. A comparative study of ethowurtzine and diclofenac in a rat model of chronic inflammation revealed the predominant anti-exudative effect of the new substance and a suppressive effect on granulation tissue proliferation comparable to that of NSAID.

The macroscopic examination of the gastric mucosa in rats receiving ethowurtzine did not reveal any ulcer damage. On the contrary, in 30% of the rats receiving diclofenac, the severity score of ulcer was 2. In the *in vitro* inflammation model, the addition of LPS to the macrophage culture resulted in a significant increase in

NO synthesis. The introduction of ethowurtzine at different concentrations together with LPS dose-dependently reduced the NO production. A statistically significant decrease in the NO synthesis was noted at high doses of the test substance compared to the group of isolated LPS use. However, the introduction of ethowurtzine at different concentrations together with LPS did not cause statistically significant changes in the proliferation of macrophages compared to the group with the isolated LPS use.

Conclusion. The newly synthesized ethowurtzine had a pronounced anti-inflammatory effect and caused a significant decrease in granulomatous infiltration and exudative edema in the chronic inflammation model. Suppression of the NO synthesis is one of the possible mechanisms in the anti-inflammatory effect of ethowurtzine. The obtained data allow to suggest possible administration of the new patented analgetic ethowurtzine in chronic pain treatment associated with inflammation.

Keywords: hexaazaisowurtzitane, ethowurtzine, inflammation, gastric toxicity, nitric oxide

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

Source of financing. The study was conducted within the state assignment topic (122020200058-6) titled "Search for, development, and study of action mechanisms of synthetic and natural bioactive substances obtained, including the use of biotechnologies, for pharmacological treatment of various pathological processes".

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Bioethics Committee at Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine (IACUC Protocol No. 19212021 dated December 21, 2021).

For citation: Krylova S.G., Kiseleva E.A., Kulagina D.A., Eremina V.V., Sherstoboev E.Yu., Ligacheva A.A., Rybalkina O.Yu., Zueva E.P., Sysolyatin S.V., Zhdanov V.V. Anti-inflammatory effect and a possible mechanism of action of ethowurtzine from the class of hexaazaizowurtzitane derivatives. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2025;24(2):66–73. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2025-2-66-73>.

ВВЕДЕНИЕ

Воспаление является универсальным патологическим процессом, который лежит в основе многих нозологий, различных по клиническим проявлениям, и является одной из центральных проблем в процессе терапии болевого синдрома различной этиологии [1–4]. Современная концепция анальгетической терапии предполагает комплексный подход с применением препаратов и методов лечения, влияющих на разные звенья патогенеза боли [1–6]. Применение нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) как средств первой линии терапии обусловлено большой ролью воспаления в развитии болевых реакций [1, 3, 6]. Согласно данным литературы, более чем за 140 лет в мире синтезированы сотни субстанций стероидных и нестероидных противовоспалительных средств для контроля воспалительного процесса [3–6].

Несмотря то, что препараты других фармацевтических групп, в частности, некоторые психотропные, нейротропные, антигистаминные, агонисты альфа- и бета-адреноблокаторов и другие обладают элементами действия НПВС [4, 5], все-таки основными препаратами в подавлении воспаления, боли и лихорадки являются нестероидные противовоспалительные средства [1, 6]. Однако риск развития

опасных нежелательных реакций, прежде всего со стороны желудочно-кишечного тракта [2] и сердечно-сосудистой системы (гастродуоденопатия, нефро-, гепато- и гематотоксичность, кардиоваскулярные эффекты и т.д.), существенно ограничивает применение НПВС даже с высокой терапевтической эффективностью [1–3]. Актуальной остается задача поиска разработки новых анальгетиков с другим механизмом действия, сочетающих противовоспалительное и анальгетическое действие, которые могут стать безопасной альтернативой НПВС.

Разработка прототипа эффективного нетоксичного анальгетика «Тиовюрцин, капсулы 120 мг» на основе first-in-class молекулы из класса гексаазаизовюрцитанов положило начало приоритетному отечественному направлению – созданию фармакологически активных молекул-кандидатов на основе фармакофора – высокоэнергетического вещества 2,4,6,8,10,12 гексаазатетрацикло[5,5,0,0^{3,11},0^{3,9}] додекана (гексаазаизовюрцитана) [7, 8]. В продолжение развития этого научного направления в ИПХЭТ СО РАН было впервые синтезировано вещество 4,10-ди(этоксикаетил)-2,6,8,12-тетраацетил-2,4,6,8,10,12-гексаазатетрацикло [5,5,0,0^{3,11},0^{3,9}] додекан (этовюрцин) из класса гексаазаизовюрцитанов [9], обезболивающее действие которого на моделях соматогенной боли различного генеза не

уступало, а по отдельным параметрам превосходило активность препарата сравнения трамадола [8, 9]. В результате исследования противовоспалительного действия этовюрцина на моделях каррагенинового и гистаминового воспаления выявлена статистически значимая антиэкссудативная активность этовюрцина, сравнимая с эффектом диклофенака, только при каррагениновом отеке [9, 10]. На модели хронического пролиферативного воспаления вещество не уступало селективному ингибитору циклооксигеназы (ЦОГ) мелоксикаму по изученным параметрам противовоспалительного действия, при этом демонстрируя отсутствие язвенных повреждений в слизистой желудочно-кишечного тракта на фоне гибели животных в группе НПВС вследствие выраженной гастротоксичности [10]. Представляется целесообразным исследовать в эксперименте противовоспалительное и ulcerогенное действие этовюрцина в сравнении с неселективным ингибитором ЦОГ диклофенаком натрия, а также возможный механизм специфической активности вещества.

Целью данной работы явилось исследование противовоспалительного и гастрозащитного действия этовюрцина в сравнении с диклофенаком на модели хронического пролиферативного воспаления и изучение влияния на продукцию оксида азота как возможного механизма действия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты были выполнены на 69 самках крыс стока SD (172–176 г), конвенциональных 1-й категории, полученных из отдела экспериментального биомоделирования НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ. Содержание животных и дизайн экспериментов были одобрены комиссией по биоэтике НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (протокол JACUSC № 19212021 от 21.12.2021) и соответствовали директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях; ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», 01.08.2015.

Дизайн экспериментов, объем выборки, схема ведения экспериментов, выбор методов статистического анализа определены оптимальным образом для данного вида исследования и позволяют получить достоверные данные для интерпретации результатов. Распределение на группы осуществляли рандомизированно, используя в качестве критерия массу тела ($\pm 10\%$). Эвтаназию животных проводили в CO_2 -камере.

Объектом исследования является 4,10-ди(этоксикацил)-2,6,8,12-тетраацетил-2,4,6,8,10,12-гексазатетрацикло[5,5,0,0^{3,11},0^{5,9}]додекан (далее – этовюрцин)

из нового класса гексаазаизовюрцитанов с приемлемым профилем безопасности ($\text{LD}_{50} > 2\,000$ мг/кг при отсутствии летальности животных). Молекула представляет собой бесцветный кристаллический продукт с содержанием основного вещества 99,6% (метод ВЭЖХ) и температурой плавления 230,5–231,5 °С. Этовюрцин нерастворим в воде.

Этовюрцин вводили *per os* через атравматичный зонд в диапазоне доз 12,5–100 мг/кг [11]. Препарат сравнения – диклофенак натрия (ООО «Озон», Россия) вводили *per os* в дозе 5 мг/кг, соответствующей среднесуточной дозе для человека, в качестве растворителя использовали воду очищенную ампульную [5]. В качестве растворителя для этовюрцина использовали воду очищенную с добавлением 20 мкл ТВИН-80 (Полисорбат LAUROPAN T/80, Италия) на 1 мл воды. Вещества вводили в объеме 0,7 мл растворителя на 200 г массы тела крысы. Животным группы контроля вводили водно-твиновый раствор в аналогичном режиме.

Хроническое пролиферативное воспаление [11] моделировали на аутбредных самках крыс стока SD, которым под кожу спины имплантировали стерильный ватный тампон массой 13 мг через иглу (A1-20x40-117И25). Этовюрцин, диклофенак вводили внутрижелудочно лечебным курсом в течение 7 сут, начиная за 1 ч до имплантации ватного тампона. На 8-е сут крыс подвергали эвтаназии, ватные тампоны с образовавшейся вокруг них грануляционной тканью извлекали, взвешивали на электронных весах Adventurer (США) и высушивали в термостате до постоянной массы при 60 °С. Проллиферативную реакцию (%) оценивали по разнице между массой высушенной гранулемы и исходной массой ватного тампона. Экссудативную реакцию (%) оценивали по разнице между массами сырой и высушенной гранулемы.

Исследование ulcerогенного действия этовюрцина проводили по окончании моделирования хронического воспаления у аутбредных самок крыс стока SD по стандартной методике [11]. На 8-е сут при аутопсии крыс желудка извлекали с помощью пинцета и остроконечных ножниц, рассекали по малой кривизне, промывали холодным физиологическим раствором для удаления содержимого, распластывали на белой подложке и макроскопически с помощью специальной лупы с подсветкой проводили оценку ulcerогенного действия по 4-балльной шкале. Для оценки ulcerогенного действия фиксировали: 0 – отсутствие повреждения, 0,5 – гиперемия, 1 – единичные незначительные повреждения (1 или 2 точечных кровоизлияния), 2 – множественные кровоизлияния (эрозии, точечные кровоизлияния); 3 – значительные и множественные поврежде-

дения (эрозии, точечные кровоизлияния), 4 – грубые повреждения, охватывающие всю поверхность слизистой (массивные кровоизлияния, эрозии, перфорации). Определяли процент животных с язвами. Критерием ulcerогенности считали наличие повреждений, соответствующим двум баллам и выше.

На модели воспаления *in vitro* продукцию оксида азота макрофагами (МФ), полученными из перитонеальной полости 25 мышей линии C57Bl/6, оценивали по концентрации нитритов в супернатанте клеток после 48-часового культивирования в присутствии различных концентраций этовюрцина и (или) ЛПС, добавляя реактив Грейса (Sigma-Aldrich, США) в соотношении 1 : 1 и измеряя оптическую плотность раствора на многоканальном спектрофотометре Titertek Multiskan® MCC (LabSystems, Финляндия) при длине волны 540 нм [12]. МФ ($2,5 \times 10^6$) культивировали 48 ч (37 °C, 5%-й CO₂, влажность 100%) в полной культуральной среде (ПКС) RPMI-1640 (Sigma, США) с добавлением 10%-й эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС, Hyclone, Великобритания), 20 mM 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid (HEPES, Sigma, США), 0,05 mM 2-меркаптоэтанол (Sigma, США), 50 мкг/мл гентамицина (Sigma, США) и 2 mM L-глутамин (Sigma, США) в 96-луночных планшетах в присутствии различных концентраций этовюрцина и (или) ЛПС 0,1 мкг/мл (Sigma, США).

Влияние этовюрцина на пролиферацию макрофагов определяли в классическом тесте МТТ (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, Sigma, США)) в лизате МФ, добавляя за 4 ч до окончания инкубации МТТ в конечной концентрации 200 мкг/мл, затем осадок растворяли диметилсульфоксидом (Sigma, США) и измеряли оптическую плотность на многоканальном спектрофотометре Titertek Multiskan® MCC (LabSystems, Финляндия) при длине волны 540 нм.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием программного обеспечения Statistica 8.0. Для проверки соответствия

нормальному распределению случайных величин использовали критерий Шапиро – Уилка. Распределение в эксперименте *in vivo* не соответствует нормальному, поэтому для множественного сравнения применяли критерий Краскела – Уоллиса, для межгруппового сравнения – U-критерия Вилкоксона – Манна – Уитни, для выявления уровня значимости различий качественных показателей – критерий углового преобразования Фишера (ϕ). Распределение случайных величин в эксперименте *in vitro* соответствует нормальному, поэтому для сопоставления выборочных средних нескольких экспериментальных выборок с одной контрольной использовали метод однофакторного дисперсионного анализа и критерий множественных сравнений Даннета. Для каждой выборки вычисляли среднее значение величины признака и стандартную ошибку средней величины $X \pm m$, которые вместе со значением n (число вариантов) представлены в итоговых таблицах. Во всех случаях нулевую гипотезу отвергали при $p < 0,05$ [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Потенциальные анальгетические средства могут оказывать тормозящее влияние на развитие воспалительных реакций вне зависимости от характера повреждающего фактора, фазы и стадии процесса [1, 6], что определяет целесообразность исследования его действия в условиях моделирования хронического воспаления в сравнении с НПВС различной селективности [1, 6, 11].

Как видно из табл. 1, на фоне выраженного хронического воспаления этовюрцин при субхроническом введении во всех используемых дозах снижал экссудативный отек: 12,5 мг/кг – в 1,7 раза ($p < 0,01$, 40%), 25 мг/кг – в 1,5 раза ($p < 0,01$, 35%), 50 мг/кг – в 1,5 раза ($p < 0,01$, 32%), 100 мг/кг – в 1,5 раза ($p < 0,01$, 34%) относительно контроля. Следует отметить, что препарат сравнения диклофенак значительно уступал (12%) этовюрцину по этому компоненту противовоспалительного действия.

Таблица 1

Показатели противовоспалительного и ulcerогенного действия этовюрцина в сравнении с диклофенаком натрия на модели хронического пролиферативного воспаления у аутобредных самок крыс стока SD						
Группа наблюдения, доза	Масса экссудата, мг, $X \pm m$	Угнетение экссудации, %	Масса сухой гранулемы, мг, $X \pm m$	Масса гранулематозно-фиброзной ткани, мг, $X \pm m$	Угнетение пролиферации, %	Количество крыс с язвенными повреждениями, %
1. Контроль, $n = 19$	144,1 $\pm$ 10,9	0	97,2 $\pm$ 9,7	84,2 $\pm$ 9,7	0	0
2. Диклофенак, 5 мг/кг, $n = 10$	127,0 $\pm$ 6,8	12	68,1 $\pm$ 9,4	55,1 $\pm$ 9,4 1–2*	35	30% (3/10) 1–2**
3. Этовюрцин, 12,5 мг/кг, $n = 10$	86,7 $\pm$ 5,0 1–3** 2–3**	40	54,9 $\pm$ 6,2 1–3**	41,9 $\pm$ 6,2 1–3**	50	0

Окончание табл. 1

Группа наблюдения, доза	Масса экссудата, мг, $\bar{X} \pm m$	Угнетение экссудации, %	Масса сухой гранулемы, мг, $\bar{X} \pm m$	Масса гранулематозно-фиброзной ткани, мг, $\bar{X} \pm m$	Угнетение пролиферации, %	Количество крыс с язвенными повреждениями, %
4. Этовюрцин, 25 мг/кг, $n = 10$	93,3 $\pm$ 6,4 1–4** 2–4**	35	56,6 $\pm$ 5,5 1–4**	43,6 $\pm$ 5,5 1–4**	48	0
5. Этовюрцин, 50 мг/кг, $n = 10$	98,6 $\pm$ 6,7 1–5** 2–5**	32	58,6 $\pm$ 5,5 1–5**	44,5 $\pm$ 6,1 1–5**	47	0
6. Этовюрцин, 100 мг/кг, $n = 10$	95,7 $\pm$ 4,5 1–6** 2–6**	34	63,5 $\pm$ 6,9 1–6**	50,5 $\pm$ 7,0 1–6**	40	0

Примечание. Перед уровнем значимости указаны номера сравниваемых групп, n – количество животных. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Судя по статистически значимому уменьшению массы гранулематозно-фиброзной ткани, этювюрцин эффективно подавлял пролиферацию грануляционной ткани в диапазоне доз 12,5–100 мг/кг от 50 до 40% соответственно против 35% диклофенака (см. табл. 1). Однако выявленная активность вещества не имела статистически значимого различия с эффектом диклофенака. Если в ранее проведенных экспериментах на модели хронического воспаления у крыс этювюрцин оказывал противовоспалительное действие, одинаковое с селективным ингибитором ЦОГ мелоксикамом [11], то в настоящем исследовании новое вещество превосходило совокупную по двум компонентам активность неселективного ингибитора ЦОГ диклофенака. Следует отметить, что представляется невозможным вычислить ЭД₅₀ вследствие независимого от дозы действия соединения, что обусловлено его химико-физическими свойствами [8, 10].

В слизистой оболочке стенки желудка у крыс, получавших этювюрцин в курсовом лечебном режиме, не обнаружено язвенных деструкций, что однозначно свидетельствует об отсутствии гастротоксичности и, логично предположить, ЦОГ2-зависимого механизма его противовоспалительного действия (см. табл. 1). Напротив, у 3 из 10 животных (30%, $p < 0,01$), получавших неселективный ингибитор циклооксигеназы диклофенак натрия в аналогичном режиме введений, выявлены язвенные повреждения, при этом индекс ulcerogenности составил 2 балла.

На модели воспаления *in vitro* добавление ЛПС в культуру макрофагов приводило к значительному увеличению продукции оксида азота (табл. 2). Внесение этювюрцина в различных концентрациях совместно с ЛПС дозозависимым образом снижало выработку оксида азота, а при использовании высоких доз исследуемого препарата (750 и 1 000 мкг/мл) наблюдалось статистически значимое уменьшение

продукции оксида азота по сравнению с группой изолированного применения ЛПС (контроль 2).

Таблица 2

Влияние этювюрцина в различных концентрациях на продукцию оксида азота перитонеальными макрофагами (МФ) intactных мышей линии C57BL/6, $\bar{X} \pm m$			
Исследуемое вещество	Концентрация, мкг/мл	Концентрация нитритов, мкМ	Пролиферация, единицы оптической плотности
Контроль 1 (МФ + среда)	–	5,58 $\pm$ 0,21	0,514 $\pm$ 0,005
Контроль 2 (МФ + ЛПС)	0,1	87,13 $\pm$ 0,53*	0,446 $\pm$ 0,008*
Этювюрцин (на фоне ЛПС)	50	81,52 $\pm$ 0,28*	0,449 $\pm$ 0,005*
	100	75,52 $\pm$ 0,40*	0,466 $\pm$ 0,007*
	200	75,86 $\pm$ 0,23*	0,462 $\pm$ 0,002*
	300	75,68 $\pm$ 0,36*	0,455 $\pm$ 0,003*
	500	75,13 $\pm$ 0,26*	0,480 $\pm$ 0,002*
	750	67,09 $\pm$ 0,40**	0,477 $\pm$ 0,002*
	1000	63,70 $\pm$ 0,27**	0,449 $\pm$ 0,002*

Примечание. Количество лунок $n = 5$. * $p < 0,05$ по сравнению с контролем 1; # $p < 0,05$ по сравнению с контролем 2.

Пролиферативная активность макрофагов снижалась как при добавлении ЛПС, так и этювюрцина на фоне ЛПС относительно показателей в группе МФ без применения каких-либо препаратов (контроль 1) (см. табл. 2). Однако использование этювюрцина в различных концентрациях совместно с ЛПС не оказывало статистически значимых изменений на пролиферацию макрофагов относительно группы контроля 2.

ОБСУЖДЕНИЕ

Гиперпродукция медиаторов боли и воспаления, таких как интерферон- γ , фактор некроза опухоли, простагландины, интерлейкины-1, 6, липолисахариды бактерий, вызывающих периферическую и цен-

тральную сенсибилизацию боли, играют решающую роль в развитии субклинической воспалительной реакции [1, 4, 14]. В настоящее время доказано, что эти субстанции являются активаторами индуцируемого кальцийнезависимого изофермента синтазы NO, повышающего продукцию оксид азота в очаге воспаления [14], который, в свою очередь, стимулирует синтез провоспалительных цитокинов, усиливает экссудацию, миграцию лейкоцитов и пролиферацию соединительной ткани [15]. Доказательство влияния этовюрцина на продукцию оксида азота, который является провоспалительным медиатором и играет ключевую роль в патогенезе воспаления [14], было получено на модели воспаления *in vitro*. Добавление этовюрцина в культуру перитонеальных макрофагов экспериментальных животных совместно с ЛПС дозозависимым образом подавляет продукцию оксида азота, что может быть одним из механизмов выявленного противовоспалительного действия вещества.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На модели хронического пролиферативного воспаления впервые синтезированный анальгетик этовюрцин превосходит антиэкссудативное действие неселективного ингибитора ЦОГ диклофенака, вместе с тем подавляя в одинаковой степени с НПВС пролиферацию грануляционной ткани. Подтвержденное в данном исследовании отсутствие ulcerogenic действия этовюрцина может свидетельствовать об альтернативном механизме противовоспалительного действия, не связанном с блокадой ЦОГ-2. В пользу данного предположения выступают результаты, полученные на модели воспаления *in vitro*.

Добавление этовюрцина в культуру перитонеальных макрофагов экспериментальных животных совместно с ЛПС подавляет продукцию оксида азота, который является провоспалительным медиатором и играет ключевую роль в патогенезе воспаления. Выявленная активность исследуемого вещества может быть одним из механизмов его противовоспалительного действия. Сочетание анальгетической и противовоспалительной активности этовюрцина с оригинальным механизмом действия и отсутствием гастротоксичности обосновывает перспективность его дальнейшего доклинического исследования, а разработка препарата на его основе для лечения хронических воспалительных заболеваний, ассоциированных с болевым синдромом, может стать безопасной альтернативой применению НПВС.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Каратеев А.Е., Насонов Е.Л., Ивашкин В.Т., Мартынов А.И., Яхно Н.Н., Арутюнов Г.П. и др. Рациональное применение

- нестероидных противовоспалительных препаратов. Клинические рекомендации. *Научно-практическая ревматология*. 2018;56:1–29. DOI: 10.14412/1995-4484-2018-1-29.
2. Карева Е.Н. Энтеропатия, ассоциированная с применением нестероидных противовоспалительных препаратов (НП-ВП-энтеропатия). *Терапевтический архив*. 2020;92(2):85–92. DOI: 10.26442/00403660.2020.02.000453.
3. Михайлова А.С. Анальгетический арсенал клинициста. *Фарматека*. 2018;(3):50–56. DOI: 10.18565/pharmateca.2018.s3.50-56.
4. Katzung B.G. Basic & clinical pharmacology; 14th ed. McGraw-Hill Education; 2018:409–438.
5. Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации. 2024. URL: <https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx>
6. Ghlichloo I., Gerriets V. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs); 2023. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024.
7. Aguero S., Megy S., Eremina V.V., Kalashnikov A.I., Krylova S.G., Kulagina D.A. et al. Discovery of a novel non-narcotic analgesic derived from the CL-20 explosive: synthesis, pharmacology, and target identification of thiowurtzine, a potent inhibitor of the opioid receptors and the ion channels. *ACS Omega*. 2021;6(23):15400–15411. DOI: 10.1021/acsomega.1c01786.
8. Kulagina D.A., Sysolyatin S.V., Krylova S.G., Kiseleva E.A., Povetyeva T.N., Zueva E.P. et al. Biological activity of hexaazaisowurtzitane derivatives. *Molecules*. 2023;28:8084. DOI: 10.3390/molecules28248084.
9. Krylova S.G., Kiseleva E.A., Povetyeva T.N. et al. Antinociceptive effect of ethowurtzine, a new compound from the class of hexaazaisowurtzitane. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2022;174:230–235. DOI: 10.1007/s10517-023-05679-4.
10. Eremina V.V., Kulagina D.A., Krylova S.G., Kiseleva E.A., Povetyeva T.N., Zueva E.P. et al. Modernization of the synthesis and anti-inflammatory activity of 4,10-di(2-ethoxyacetyl)-2,6,8,12-tetraacetyl-2,4,6,8,10,12-hexaazaisowurtzitane – An innovative non-narcotic analgesic. *Pharm. Chem. J.* 2024;57:1703–1708. DOI: 10.1007/s11094-024-03068-3.
11. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2013:944.
12. Green L.C., Wagner D.A., Glogowski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrite in biological fluids. *Anal. Biochem.* 1982;126(1):131–138. DOI: 10.1016/0003-2697(82)90118-x.
13. Лемешко Б.Ю., Лемешко С.Б. Проблемы применения непараметрических критериев согласия в задачах обработки результатов измерений. *Системы анализа и обработки данных*. 2021;2(82):47–66. DOI: 10.17212/2782-2001-2021-2-47-66.
14. Cinelli M.A., Do H.T., Miley G.P., Silverman R.B. Inducible nitric oxide synthase: regulation, structure, and inhibition. *Med. Res. Rev.* 2020;40(1):158–189. DOI: 10.1002/med.21599.
15. Zidi S., Bediar-Boulaneb F., Belguendouz H. et al. Local pro-inflammatory cytokine and nitric oxide responses are elevated in patients with pterygium. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2017;30(4):395–405. DOI: 10.1177/0394632017742505.

Вклад авторов

Крылова С.Г. – разработка концепции и дизайна экспериментов *in vivo*, участие в экспериментах, написание статьи. Киселева Е.А. – осуществление экспериментов, статистический анализ. Шерстобоев Е.Ю. – разработка концепции и дизайна экспериментов *in vitro*, участие в экспериментах, статистический анализ результатов. Лигачева А.А. – осуществление экспериментов *in vitro*, описание результатов в статье. Рыбалкина О.Ю. – участие в экспериментах. Зуева Е.П. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Сысолятин С.В. – разработка синтеза объекта исследования. Кулагина Д.А. – синтез и представление объекта исследования. Еремина В.В. – синтез объекта исследования. Жданов В.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи.

Информация об авторах

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

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

Кулагина Дарья Александровна – канд. хим. наук, зав. лабораторией малотоннажной химии, ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск, imbirir@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4673-5817>

Еремина Валерия Валерьевна – мл. науч. сотрудник, лаборатория медицинской химии, ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск, eremina_v.v@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1467-0051>

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

Шерстобоев Евгений Юрьевич – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией иммунофармакологии, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, sherstoboev_eu@pharmso.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6178-5329>

Лигачева Анастасия Александровна – канд. биол. наук, науч. сотрудник, лаборатория иммунофармакологии, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, vittelli@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3337-1516>

Рыбалкина Ольга Юрьева – канд. биол. наук, науч. сотрудник, лаборатория онкофармакологии, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, olgatomsk87@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8577-4520>

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

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

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

Поступила в редакцию 11.06.2024;
одобрена после рецензирования 08.11.2024;
принята к публикации 14.11.2024