

Оценка противовоспалительной активности нового производного 1,6-дигидропиримидина

Е.В. Куваева, Д.А. Колесник, П.О. Левшукова, Е.Н. Кириллова, Д.Ю. Ивкин

Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет,

Российская Федерация, 197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Куваева Елена Владимировна – доцент кафедры органической химии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета (СПбХФУ), кандидат фармацевтических наук. Тел.: +7 (812) 439-39-00 доб. 4201. E-mail: elena.kuvaeva@pharminnotech.com. ORCID: 0000-0002-1894-884X

Колесник Денис Андреевич – аспирант кафедры органической химии СПбХФУ. Тел.: +7 (812) 439-39-00 доб. 4201. E-mail: denis.kolesnik@spcru.ru. ORCID: 0000-0002-5527-6595

Левшукова Полина Олеговна – студентка фармацевтического факультета СПбХФУ. Тел.: +7 (812) 439-39-00 доб. 4201. E-mail: levshukova.polina@pharminnotech.com. ORCID: 0000-0001-6229-0339

Кириллова Евгения Никитична – доцент кафедры органической химии СПбХФУ, кандидат химических наук. Тел.: +7 (812) 439-39-00 доб. 0020. E-mail: eugenia.kirillova@pharminnotech.com. ORCID: 0000-0003-1275-0477

Ивкин Дмитрий Юрьевич – доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии СПбХФУ, кандидат биологических наук. Тел.: +7 (812) 499-39-00 доб. 4090. E-mail: dmitry.ivkin@pharminnotech.com. ORCID: 0000-0001-9273-6864

РЕЗЮМЕ

Введение. Соединения, в основу строения которых положен 1,3-диазиновый цикл, обладают различными видами биологической активности. Многие из них хорошо зарекомендовали себя на фармацевтическом рынке в качестве эффективных и безопасных лекарственных средств. Получение новых соединений, имеющих в основе пиримидиновое ядро, а также исследование их биологической активности является актуальным направлением.

Цель исследования – оценка острой токсичности, противовоспалительной активности *in silico* и *in vivo* 5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия.

Материал и методы. Прогнозирование острой токсичности исследуемого соединения осуществляли с помощью локальной версии программного обеспечения (ПО) GUSAR. Острую токсичность *in vivo* определяли на белых аутбредных мышках-самцах. Компьютерный скрининг биологической активности проводили с помощью программы PASS, расположенной на веб-сервисе, свободно доступном через Интернет. Для экспериментальной оценки противовоспалительной активности были включены в работу две модели: «формалиновый отек лап мышей» и «ватная гранулема у крыс».

Результаты. Прогнозируемые и экспериментальные данные острой токсичности коррелируют между собой. Исследуемое соединение относится к классу «практически нетоксично». В процессе скрининга биологической активности с помощью программы PASS получены данные о предположительной противовоспалительной активности. Исследования противовоспалительной активности *in vivo* показали, что 5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олят натрия обладает выраженной противовоспалительной активностью.

Заключение. Результаты компьютерного моделирования позволили определить острую токсичность и выявить потенциальную биологическую активность нового 5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия. Экспериментально доказано, что исследуемое соединение обладает низкой токсичностью и проявляет выраженную противовоспалительную активность.

Ключевые слова: водорастворимые пиримидины, компьютерное прогнозирование, острая токсичность, противовоспалительная активность, формалиновый отек, гранулема.

Для цитирования: Куваева Е.В., Колесник Д.А., Левшукова П.О., Кириллова Е.Н., Ивкин Д.Ю. Оценка противовоспалительной активности нового производного 1,6-дигидропиримидина. Фармация, 2021; 70 (4): 44–47. <https://doi.org/10.29296/25419218-2021-04-07>

EVALUATION OF THE ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF A NEW 1,6-DIHYDROPYRIMIDINE DERIVATIVE

E.V. Kuvaeva, D.A. Kolesnik, P.O. Levshukova, E.N. Kirillova, D.Yu. Ivkin

Saint Petersburg Chemopharmaceutical University, 14, Prof. Popov St., Saint Petersburg 197376, Russian Federation

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Kuvaeva Elena Vladimirovna – Associate Professor of the Department of Organic Chemistry of Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPbChPhU), PhD. Tel.: +7 (812) 439-39-00 ext. 4201. E-mail: elena.kuvaeva@pharminnotech.com. ORCID: 0000-0002-1894-884X

Kolesnik Denis Andreevich – Post graduate student of the Department of Organic Chemistry of SPbChPhU. Tel.: +7 (812) 439-39-00 ext. 4201. E-mail: denis.kolesnik@spcpu.ru. ORCID: 0000-0002-5527-6595

Levshukova Polina Olegovna – Student, фармацевтического факультета of SPbChPhU. Tel.: +7 (812) 439-39-00 ext. 4201. E-mail: levshukova.polina@pharminnotech.com. ORCID: 0000-0001-6229-0339

Kirillova Evgeniya Nikitichna – Associate Professor of the Department of Organic Chemistry of SPbChPhU, PhD. Tel.: +7 (812) 439-39-00 ext. 0020. E-mail: eugenia.kirillova@pharminnotech.com. ORCID: 0000-0003-1275-0477

Ivkin Dmitriy Yur'evich – Associate Professor of Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology of SPbChPhU, PhD. Tel.: +7 (812) 499-39-00 ext. 4090. E-mail: dmitry.ivkin@pharminnotech.com. ORCID: 0000-0001-9273-6864

SUMMARY

Introduction. Compounds based on the 1,3-diazine cycle have different types of biological activity. Many of them have shown themselves to good advantage in the pharmaceutical market as effective and safe medicines. The production of new compounds based on the pyrimidine core and the study of their biological activity are an urgent area.

Objective: to evaluate the *in silico* and *in vivo* acute toxicity and anti-inflammatory activity of 5-butyl-1,2-diphenyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-4-sodium olate.

Material and methods. The acute toxicity of the test compound was predicted using the local version of the *GUSAR* software. *In vivo* acute toxicity was determined in outbred male albino mice. Computer-aided screening of biological activity was performed using the *PASS* program located on a web service that was freely available via the Internet. Two models (a murine formalin-induced paw edema model and a rat cotton pellet-induced granuloma model) were included in the study to experimentally evaluate anti-inflammatory activity.

Results. Predicted and experimental data on acute toxicity correlate with each other. The test compound belongs to the class of practically non-toxic ones. Biological activity screening with the *PASS* program yielded data on putative anti-inflammatory activity. Studies of *in vivo* anti-inflammatory activity showed that 5-butyl-1,2-diphenyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-4-sodium olate had a pronounced anti-inflammatory activity.

Conclusion. The results of computer simulation could determine the acute toxicity of the new 5-butyl-1,2-diphenyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-4-sodium olate and identify its potential biological activity. It has been experimentally proven that the test compound has low toxicity and exhibits a pronounced anti-inflammatory activity.

Key words: water-soluble pyrimidines, computer-assisted prediction, acute toxicity, anti-inflammatory activity, formalin-induced edema, granuloma.

For reference: Kuvaeva E.V., Kolesnik D.A., Levshukova P.O., Kirillova E.N., Ivkin D.Yu. Evaluation of the anti-inflammatory activity of a new 1,6-dihydropyrimidine derivative. *Farmatsiya*, 2021; 70 (4): 44–47. <https://doi.org/10.29296/25419218-2021-04-07>

Введение

Соединения, в основу строения которых положен 1,3-диазиновый цикл (пиримидин), обладают различными видами биологической активности. Многие из них хорошо зарекомендовали себя на фармацевтическом рынке в качестве эффективных и безопасных лекарственных средств – иматиниб (противоопухолевое средство), дипиридамола (сосудорасширяющее, антиагрегационное средство), метилурацил (обладает выраженным анаболическим эффектом). Получение новых соединений, имеющих в основе пиримидиновое ядро, а также исследование их биологической активности является приоритетным и актуальным направлением в фармацевтической индустрии [1].

Цель исследования – оценка острой токсичности, противовоспалительной активности *in silico* и *in vivo* нового 5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия [2].

Материал и методы

Прогнозирование острой токсичности исследуемого соединения осуществляли с помощью локальной версии программного обеспечения *Gusar*

[3]. Острую токсичность *in vivo* определяли на белых аутбредных мышках-самцах массой тела 18–22 г, из которых были сформированы 3 группы по 10 животных. 0,5 мл раствора 5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия вводили однократно внутривентриально в диапазоне доз от 1200 до 1500 мг/кг. Выживаемость животных определяли, наблюдая за ними через 24 и 48 ч от момента введения исследуемого соединения. Наблюдение за животными осуществляли в течение 72 ч. Регистрировали развитие основных симптомов и время гибели животных [4]. Экспериментальная среднелетальная доза рассчитана с использованием инсталлированного программного обеспечения *Statistica 7.0*, которое используется для расчета LD50 методом наименьших квадратов [5]. Компьютерный скрининг биологической активности проводили с помощью программы *PASS*, расположенной на веб-сервисе, свободно доступном через Интернет [6].

Для экспериментальной оценки противовоспалительной активности были включены в работу две модели: «формалиновый отек лап мышей» и «ватная гранулема у крыс» [4]. Для моделирова-

ния формалинового отека использовали белых аутбредных мышей-самцов массой 18–22 г, из которых были сформированы 3 группы по 10 особей в каждой. Особям контрольной группы вводили только 2% формалин. Животные опытных групп получали исследуемое соединение и препарат сравнения, которые вводили внутривентриально за 1 ч до начала эксперимента. Острый отек вызывали субплантарным введением (под подошвенный апоневроз) 2% раствора формалина в количестве 0,5 мл каждому животному. Исследуемое соединение вводили внутривентриально в дозе 20 мг/кг. Препарат сравнения «Диклофенак» вводили тем же путем в дозе 12,6 мг/кг. Выраженность отека оценивали по изменению толщины лапки (в мм) с помощью электронного штангенциркуля до и через 1, 2, 24 и 48 ч после введения раствора формалина. Противовоспалительную активность исследуемых соединений выражали в % угнетения воспаления по формуле:

$$\% \text{ угнетения воспаления} = \left(1 - \frac{S_1 - S_2}{S_3 - S_4} \right) \times 100,$$

где S_1 – толщина лапки, измеренной через определенный промежуток времени после введения формалина у животного, получавшего исследуемый препарат; S_2 – толщина лапки, измеренной до введения формалина у животного, получавшего исследуемый препарат; S_3 – толщина лапки, измеренной через определенный промежуток времени после введения формалина у контрольного животного; S_4 – толщина лапки до введения формалина у контрольного животного.

Для моделирования ватной гранулемы использовали белых крыс-самок массой тела 280–

320 г, из которых были сформированы 3 группы по 10 особей в каждой. Крысам, находящимся под хлоралгидратным наркозом (300 мг/кг), в области спины выбривали шерсть и делали продольный надрез кожи и подкожной клетчатки. Затем пинцетом в подкожной клетчатке формировали полость, в которую помещали стерильный ватный шарик (15 мг) и накладывали 1 шов. Испытуемый препарат в виде натриевой соли (в дозе 33,3 мг/кг) и препарат сравнения (диклофенак в дозе 6,32 мг/кг) вводили внутривентриально 1 раз в сутки в течение 7 дней. Контрольной группе в течение 7 дней внутривентриально вводили физиологический раствор. На 8 день имплантированный шарик с образовавшейся фиброзно-грануляционной тканью извлекали и высушивали до постоянной массы при 60°C. Противовоспалительную активность оценивали по расчетным величинам массы гранулемы, характеризующим воспаление.

Результаты и обсуждение

Результат прогноза острой токсичности (имеется соответствие области применимости модели) при внутривентриальном введении у мышей составил (LD_{50}) 1154,8 мг/кг. Экспериментальная среднелетальная доза составила 1350 мг/кг. Таким образом, прогнозируемые и экспериментальные данные коррелируют, исследуемое соединение, согласно классификации по К.К.Сидорову, относится к V классу токсичности – «практически нетоксично».

В процессе скрининга биологической активности с помощью программы PASS получены данные о предположительной противовоспалительной активности с вероятностью $P_a \approx 0,5$. Этот показатель находится несколько ниже 1. Однако при выборе исследуемой активности мы руководствовались критерием новизны. В данном случае, чем ближе значение P_a к единице, тем более вероятно, что соединение является близким аналогом известного лекарственного препарата. Поэтому, для нового 5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия изучение противовоспалительной активности является достаточно актуальным.

Исследования противовоспалительной активности *in vivo* показали, что 5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-

Результаты оценки противовоспалительной активности в модели «формалиновый отек» лап мышей

Results of evaluation of anti-inflammatory activity using the murine formalin-induced paw edema model

Группа	% угнетения воспаления			
	через 1 ч	через 2 ч	через 24 ч	через 48 ч
Диклофенак	-7,69±2,39**	12,20±3,07	14,82±3,00	15,70±3,79
Исследуемое соединение	12,60±8,19*	25,65±5,68	26,81±6,77	30,85±8,18

Примечание: * – различия с диклофенаком статистически значимы $p \leq 0,05$;

** – на фоне применения референсного препарата наблюдалось отсутствие угнетения воспаления с некоторой его провокацией.

Note. * the differences between the diclofenac group and the experimental group are statistically significant, $p < 0.05$; * when the reference drug was used, there was no suppression of inflammation with its slight provocation.

Таблица 1

Table 1

Таблица 2

Результаты оценки противовоспалительной активности в модели «ватная гранулема» у крыс

Table 2

Results of evaluation of anti-inflammatory activity using the rat cotton pellet-induced granuloma model in rats

Группа животных	Масса гранулемы, г		Расчетная величина массы гранулемы, характеризующая воспаление, г	
	сырая (M ₁)	высушенная (M ₂)	экссудативная фаза (M ₁ -M ₂)	пролиферативная фаза (M ₁ -M _ш)
Контроль	0,253±0,018	0,088±0,006	0,164±0,012	0,074±0,006
Диклофенак	0,199±0,011*	0,069±0,005*	0,129±0,01*	0,054±0,005*
Исследуемое соединение	0,186±0,009**	0,060±0,004**	0,126±0,006**	0,045±0,004**

Примечание: M_ш – масса шарика (0,015 г); * – различия с группой «контроль» статистически значимы при p ≤ 0,05; ** – статистически значимых различий с группой «диклофенак» нет.

Note. M_p – the mass of a pellet (0.015 g); * the differences between the control group and the experimental group are statistically significant at p < 0.05; # there are no statistically significant differences between the diclofenac group.

1,6-дигидропиримидин-4-олят натрия обладает выраженной противовоспалительной активностью, действуя как на этапе острого экссудативного воспаления (модель «формалиновый отек»), так и на стадии хронического пролиферативного и иммунного воспаления (модель «ватная гранулема»). А также находится на одном уровне с препаратом сравнения (табл. 1, 2).

Заключение

Результаты компьютерного моделирования позволили определить острую токсичность и выявить потенциальную биологическую активность. С помощью экспериментальных фармакологических исследований доказано, что исследуемое соединение обладает низкой токсичностью и относится к V классу – «практически нетоксично», а также проявляет выраженную противовоспалительную активность.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Литература

1. VIDAL: [справочная система]. Москва, «Видаль Рус». [Электронное издание]. Режим доступа (для зарегистрированных пользователей): <http://www.vidal.ru> (дата обращения 01.04.2021).

2. Колесник Д.А., Куваева Е.В., Яковлев И.П. и др. Синтез гидрофильных форм 6-гидроксипиримидин-4(3H)-онов и оценка их острой токсичности «in silico» и «in vivo». Бултеровские сообщения. 2021; 66 (4): 41–5. DOI: jbc-01/21-66-4-4

3. Электронная программа GUSAR V. 2011.1: система моделирования острой токсичности (для моделирования). Разработчики А. Захаров, В. Поройков. М., 2011. (Электронная дистрибуция). Заглавие с титула экрана.

4. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012; 944.

5. Электронная программа STATISTICA 7.0: система статистического анализа (для статистического анализа). Разработчик «Statsoft», Америка: 1984. (Электронная дистрибуция). Заглавие с титула экрана.

6. PASS On line. Way2Drug: Москва. [Электронное издание]. Режим доступа (для зарегистрированных пользователей): www.way2drug.com/PASS On line (дата обращения 08.01.2020).

References

1. VIDAL: [reference system]. Moscow, «Vidal Rus». [Electronic resource]. Access mode (for registered users): <http://www.vidal.ru> (circulation date 01.04.2021).

2. Kolesnik D.A., Kuvaev E.V., Yakovlev I.P. et al. Synthesis of hydrophilic forms of 6-hydroxypyrimidin-4 (3H) -ones and assessment of their acute toxicity «in silico» and «in vivo». Butlerovskie soobsheniya. 2021; 66 (4): 41–5. DOI: jbc-01/21-66-4-4

3. Electronic program GUSAR V. 2011.1: acute toxicity modeling system (for modeling). Developers A. Zakharov, V. Poroiykov. M., 2011 (Electronic distribution).

4. Mironov A.N. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part 1. M.: Grif and K, 2012; 944.

5. Electronic program STATISTICA 7.0: statistical analysis system (for statistical analysis). Developer «Statsoft», America: 1984 (Electronic distribution).

6. PASS On line. Way2Drug: Moscow. [Electronic resource]. Access mode (for registered users): www.way2drug.com/PASS On line (circulation date 08.01.2020).

Поступила 15 мая 2021 г.

Received 15 May 2021

Принята к публикации 07 июня 2021 г.

Accepted 07 June 2021