

П. С. Бондаренко

# Дослідження впливу *N*-(трифлуорометилфеніл)-4-гідрокси-2,2-діоксо-1*H*-2λ<sup>6</sup>,1-бензотіазин-3-карбоксаміду на біохімічні показники запальної реакції в щурів за умов ад'ювантного артриту

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова

**Ключові слова:** протизапальна дія, *N*-(трифлуорометилфеніл)-4-гідрокси-2,2-діоксо-1*H*-2λ<sup>6</sup>,1-бензотіазин-3-карбоксамід, біохімічні показники, ад'ювантний артрит, щури

Завдяки ефективній здатності зменшувати біль і запалення нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) є одними з найпопулярніших ліків, що підтверджує їхні топові позиції в переліку основних лікарських засобів ВООЗ. Беручи до уваги дані світової статистики щодо зростання захворювань опорно-рухового апарату, використання НПЗЗ є та буде в майбутньому незмінним лідером фармакотерапії цих патологій [1, 2]. Крім знеболюючої, протизапальної та жарознижуючої дії, НПЗЗ виявляють здатність запобігати інші критичні стани, у тому числі онкологічну патологію та серцеві напади. Однак дані численних плацебо-контрольованих досліджень і метааналізів демонструють несприятливі поліорганні ефекти НПЗЗ (у тому числі серцево-судинні, печінкові, ниркові, церебральні та легеневі ускладнення) [2, 3]. Серед перспективних шляхів подолання цих ускладнень останнім часом розробляються нові біофармацевтичні технології для створення пролонгованих, кишечнорозчинних форм препаратів цієї групи, різні більш зручні та безпечні лікарські форми (у тому числі й локальні, які мінімізують системну абсорбцію), введення специфічних

допоміжних речовин, використання ізомерів і різних кристалічних модифікацій, а також фармакоформні модифікації [2, 4].

Як об'єкт дослідження взято сполуку – похідне 4-*R*-2,2-діоксо-1*H*-2λ<sup>6</sup>,1-бензотіазин-3-карбонових кислот, синтезованих шляхом біоізостеричної заміни в молекулі оксикамів на кафедрі фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора І. В. Українця. Попередні результати [5] довели наявність у похідних цього хімічного класу високої анальгетичної активності та встановили сполуку-лідера, а саме *N*-(4-трифлуорометилфеніл)-4-гідрокси-2,2-діоксо-1*H*-2λ<sup>6</sup>,1-бензотіазин-3-карбоксамід (рисунок).

Серед трьох поліморфних модифікацій цієї сполуки було визначено лідера, який за фармакодинамічними та фармакокінетичними параметрами перевершував інші зразки [5, 6].

**Мета дослідження** – вивчити протизапальну дію похідного бензотіазин-3-карбоксаміду за динамікою гематологічних і біохімічних показників у щурів на моделі автоімунного

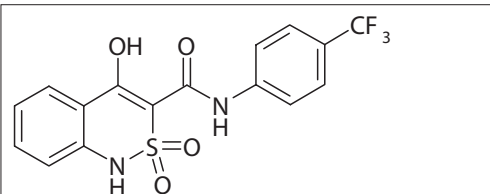


Рисунок. Хімічна формула *N*-(4-трифлуорометилфеніл)-4-гідрокси-2,2-діоксо-1*H*-2λ<sup>6</sup>,1-бензотіазин-3-карбоксаміду

© П. С. Бондаренко, 2021

запального процесу (ад'ювантного артриту).

**Матеріали та методи.** Дослідження виконано на білих нелінійних щурах-самцях, отриманих з віварію ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», яких утримували в умовах віварію ВНМУ імені М. І. Пирогова. Протягом експерименту тварини знаходились у стандартних умовах на харчовому раціоні, збалансованому за всіма нутрієнтами, з 12-год освітленням (день/ніч) та вільним доступом до води [7, 8].

Усі експерименти проводили відповідно до рекомендацій ДЕЦ МОЗ України «Доклінічні дослідження лікарських засобів» [7] та 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 лютого 2006 року зі змінами «Про захист тварин від жорстокого поводження». Ідентифікацію тварин проводили з використанням системи індивідуальних кольорових міток на тілі, при проведенні досліджень враховувались сезонні та циркадні ритми тварин.

Ад'ювантний артрит (АА) у щурів моделювали введенням під підошовний апоневроз задньої правої лапи 0,1 мл повного ад'юванта Фрейнда (Thermo Fisher scientific, США) [7]. У дослід щурів брали на 14 день (пік розвитку автоімунного запального процесу). Дослідження проводили на 14 та 28 добу після інокуляції ад'юванта. Тварини були розподілені на 4 групи (по 7 тварин у кожній): перша група – умовно здорові щури (позитивний контроль); друга група – тварини з АА без лікування (негатив-

ний контроль); до третьої та четвертої груп входили тварини, яким на тлі розвитку АА внутрішньошлунково (в/ш) вводили відповідно похідне бензотіазин-3-карбоксаміду (сполуку В) і препарат порівняння мелоксикам («Моваліс», Boehringer Ingelheim) у середніх ефективних дозах за антиексудативною активністю, яка була розрахована на моделі карагенінового набряку та становила 5,2 мг/кг для сполуки В та 9,1 мг/кг для мелоксикаму. Вибір референтного препарату зумовлений подібністю хімічної будови цих сполук. Тварини контрольної групи отримували еквіоб'ємну кількість розчинника за аналогічних режимів і способів введення.

Після закінчення експерименту тварин виводили з досліду за допомогою дислокації хребців у шийному відділі під легким ефірним наркозом, набирали кров, потім проводили розтин передньої черевної стінки, вилучали шлунок, промивали його фізіологічним розчином і забирали матеріал для біохімічних досліджень. Гематологічний аналіз крові проводили на автоматичному гемоаналізаторі Erma PCS-210 (Японія). Для гематологічних досліджень брали зразки цільної венозної крові з К2 ЕДТА. Кров зі згустками чи ознаками гемолізу для досліджень не використовували. Усі біохімічні дослідження виконані на базі сертифікованої МОЗ України Науково-дослідної клініко-діагностичної лабораторії ВНМУ імені М. І. Пирогова (свідоцтво про переатестацію від 2 березня 2015 р. № 049/15). Для біохімічних досліджень виділяли слизову оболонку шлунка (СОШ), перфузували холодним 1,15 % розчином КСІ і гомогенізували при 3000 об/хв (тефлон-скло) у середовищі 1,15 % КСІ (співвідношення 1:3). Гомогенати центрифугували протягом 30 хв при 600 g, від-

бирали аліквоти постядерного супернатанту. Сироватку крові отримували шляхом центрифугування крові при 1500 об/хв протягом 20 хв.

Вміст білка оцінювали мікробіуретовим методом [9]. Активність простагландин-ендопероксид синтази (PGH-синтази, КФ 1.14.99.1) визначали спектрофотометричним методом за накопиченням окисненої форми донора електронів адреналіну [10]. Активність цистатіонін- $\gamma$ -ліази (ЦГЛ) (КФ 4.4.1.1) визначали за накопиченням  $H_2S$  після інкубації у відповідному середовищі. Сумарну активність NO-синтаз (eNOS та iNOS, КФ 1.14.13.39) визначали за накопиченням нітрит-аніона ( $NO^{2-}$ ) після інкубації в середовищі, 1 мл якого містив 50 ммоль/л  $KH_2PO_4$ -NaOH-буфер (рН 7,0), 1 ммоль/л  $MgCl_2$ , 2 ммоль/л  $CaCl_2$ , 1 ммоль/л NADPH, 2,2 ммоль/л L-аргініну [11]. Вміст метаболітів оксиду азоту – нітритів і нітратів визначали за реакцією з реактивом Гріса – 0,2 % на 12 % розчині етанової кислоти [12] після попереднього осадження білків ацетонітрилом. Вміст  $H_2S$  у сироватці крові та активність ЦГЛ визначали спектрофотометричним методом, який оснований на утворенні тіоніну в реакції між сульфід аніоном і пара-фенілендіаміном гідрохлориду в кислому середовищі в присутності іонів заліза (III) [13, 14]. Вміст інтерлейкіну-1 $\beta$  (ІЛ-1 $\beta$ ) у сироватці крові визначали імуноферментним методом з використанням комерційного набору «ІЛ-1 $\beta$  ELISA» («Diaclone», Франція) відповідно до інструкції фірми-виробника.

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили методами варіаційної статистики [15, 16]. Визначення характеру розподілу ознак у виборці здійснювали за допомогою критерію Шапіро-Уїлка, дані представляли як середню (M) та похибку середньої (m). Використовували порівняння вибірок

за допомогою критерію Мана-Уїтні. Результати вважали статистично значущими в разі  $p < 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** Як засвідчили отримані результати, введення ад'юванта Фрейнда в усіх тварин викликало місцеву запальну реакцію: швидкий розвиток гіперемії й набряку враженої кінцівки, розвиток поліартриту, що виявлявся появою гіперемії та набряком кінцівок, збільшенням їхніх розмірів і болісністю за напруження. Максимальний прояв ознак поліартриту спостерігався на 14 день експерименту. Тварини були менш рухливими, знижувалося споживання їжі та води та їхня загальна активність протягом дня. У більшості тварин групи з АА з 14 по 28 добу дослідження з'являлися ознаки генералізованого артрити, які проявлялися ураженням другої лапи, що свідчить про розвиток системного запального процесу. Динаміка маси тіла щурів, що наведена в таблиці 1, свідчить про вірогідне зниження маси тіла тварин з АА порівняно з щурами групи позитивного контролю.

У тварин, яким проводили лікування сполукою В, подібно до мелоксикаму, на 28 добу експерименту не відзначалось втрати маси тіла (на відміну від АА без лікування). За цим показником були зафіксовані статистично вірогідні відмінності щодо групи негативного контролю. Водночас середній показник маси тіла тварин лікованих груп не мав статистично вірогідної різниці між собою.

Про розвиток генералізованої запальної реакції за умов АА в периферичній крові свідчило статистично вірогідне збільшення показників ШОЕ (у 1,85 разу) і лейкоцитозу (у 2,16 разу) порівняно з вихідними показниками до початку моделювання патології в цій групі (табл. 2). Лікування

*Динаміка маси тіла щурів з ад'ювантним артритом на тлі лікування  
сполукою В і мелоксикамом ( $M \pm m, n = 7$ )*

Дослідна група	Маса тіла, г		
	вихідні дані	14 доба	28 доба
Умовно здорові тварини (позитивний контроль)	203,50 ± 1,43	218,10 ± 1,90	229,10 ± 1,24
Ад'ювантний артрит без лікування (негативний контроль)	201,40 ± 13,22	203,0 ± 2,39	206,0 ± 1,70*
Ад'ювантний артрит + Сполука В	197,90 ± 3,76	210,70 ± 1,94#	224,40 ± 1,15*.#
Ад'ювантний артрит + Мелоксикам	202,90 ± 2,13	213,10 ± 1,51#	221,0 ± 1,66#

*Примітки. Тут і в табл. 2: \* $p < 0,05$  порівняно з групою позитивного контролю, # $p < 0,05$  порівняно з групою негативного контролю.*

сполукою В не повністю усувало зростання показників запалення, проте збільшення ШОЕ та кількості лейкоцитів у цій групі було значно менш виразним (на 13,3 і 3,92 % відповідно,  $p < 0,05$ ) порівняно з нелікованими щурами. Ці показники незначно відрізнялись від таких за використання мелоксикаму (табл. 2).

Наступним кроком дослідження стало визначення біохімічних маркерів запального процесу у внутрішніх органах щурів з АА, оскільки цей процес зазвичай характеризується системним запаленням та охоплює практично всі системи організму [7]. Нами було обрано СОШ. Це зумовлено, з одного боку, тим, що зміни біохімічних маркерів запалення в шлунку є подібними до таких в інших органах за умов аутоімунного запального процесу, а з іншо-

го боку – саме шлунок є головним органом-мішенню негативного впливу НПЗЗ, у тому числі й селективних інгібіторів ЦОГ-2 (таких як мелоксикам), і так звана НПЗЗ-гастропатія характеризується ознаками місцевого запалення навіть за відсутності системного запального процесу [3, 17]

Добре відомо, що головним механізмом протизапальної активності НПЗЗ є їхня антицитокінова й антипростагландинова дія [18–20], тому ми дослідили зміни вмісту прозапального IL-1 $\beta$  у сироватці крові та РГН-синтази в постядерному супернатанті СОШ щурів. Встановлено, що АА супроводжувався вірогідним зростанням (у 1,90 та 1,75 разу) зазначених показників (табл. 3), що цілком відповідає макроскопічним змінам і динаміці гематологічних показників

Таблиця 2

*Деякі показники клінічного аналізу крові щурів з ад'ювантним артритом  
під впливом сполуки В і мелоксикаму ( $M \pm m, n = 7$ )*

Дослідна група	Лейкоцити, 10 <sup>9</sup> /л		ШОЕ, мм/год	
	вихідні дані	28 доба	вихідні дані	28 доба
Умовно здорові тварини (позитивний контроль)	10,05 ± 0,27	10,33 ± 0,28	5,90 ± 0,21	5,95 ± 0,19
Ад'ювантний артрит без лікування (негативний контроль)	9,80 ± 0,35	21,16 ± 0,82*	5,18 ± 0,14	9,61 ± 0,27*
Ад'ювантний артрит + Сполука В	9,97 ± 0,28	11,30 ± 0,42#	5,61 ± 0,18	5,83 ± 0,20#
Ад'ювантний артрит + Мелоксикам	9,75 ± 0,21	10,95 ± 0,14#	5,80 ± 0,21	6,22 ± 0,16#

**Вміст інтерлейкіну-1 $\beta$  у сироватці крові та активність простагландин-ендопероксид синтази в слизовій оболонці шлунка на 28 добу після моделювання ад'ювантного артриту в щурів під впливом сполуки В і мелоксикаму ( $M \pm m, n = 7$ )**

Група щурів	Вміст інтерлейкіну-1 $\beta$ , пг/мл	Активність простагландин-ендопероксид синтази, нмоль/хв • мг протеїну
Умовно здорові тварини (позитивний контроль)	132,0 $\pm$ 5,79	0,422 $\pm$ 0,029
Ад'ювантний артрит без лікування (негативний контроль)	251,0 $\pm$ 6,68*	0,739 $\pm$ 0,033*
Ад'ювантний артрит + Сполука В	198,0 $\pm$ 6,43*.,#.&	0,491 $\pm$ 0,024*.,#.&
Ад'ювантний артрит + Мелоксикам	240,0 $\pm$ 6,71*	0,589 $\pm$ 0,037*.,#

Примітка. Тут і в табл. 4: \* $p < 0,05$  порівняно з групою позитивного контролю, # $p < 0,05$  порівняно з групою негативного контролю, & $p < 0,05$  порівняно з групою тварин, що отримували мелоксикам.

[5]. Застосування мелоксикаму та сполуки В також викликало зростання ІЛ-1 $\beta$  та РGH-синтази, проте масштабність цих змін була меншою, ніж у тварин без лікування (1,81 і 1,50 разу щодо ІЛ-1 $\beta$  та 1,39 і 1,16 разу щодо РGH-синтази відповідно). Тобто, протизапальна дія похідного карбоксаміду статистично достовірно переважала препарат порівняння.

Вплив на патобіохімічні показники запального процесу групи НПЗЗ не обмежується лише описаним вище. Добре відомо, що їхня протизапальна активність реалізується за рахунок впливу на індукцибельну ізоформу NO-синтази, і також, як стало нещодавно відомо, і на систему H<sub>2</sub>S [21, 22]. Наші результати показали, що експериментальний запальний процес викликає збільшення вмісту нітратів і нітритів (на 52,94 %) та сумарної активності NO-синтази (на 61,90 %) порівняно з показниками групи позитивного контролю (табл. 4). Це супроводжувалось суттєвим зростанням рівня H<sub>2</sub>S та активності його фермента-продуцента (у 1,43 і 1,52 разу відповідно,  $p < 0,05$ ). Лікування тварин мелоксикамом практично не впливало на елевачію даних показників, тоді як введення тваринам спо-

луки В стримувало надмірну продукцію прозапальних маркерів (рівень нітратів і нітритів, NO-синтази збільшувався лише на 58,8 і 54,7 % відповідно, а H<sub>2</sub>S і ЦГЛ – у 1,49 та 1,47 разу відповідно,  $p < 0,05$ ). Вплив сполуки В статистично відрізнявся від препарату порівняння.

Враховуючи відомі дані, що гіперпродукція монооксиду азоту та H<sub>2</sub>S залучені в патогенез запальної реакції, а також розвиток НПЗЗ-індукованих гастропатій [3], отримані результати підтверджують більш виразну протизапальну дію N-(трифлуорометилфеніл)-4-гідрокси-2,2-діоксо-1H-2 $\lambda$ <sup>6</sup>,1-бензотіазин-3-карбоксаміду порівняно з референтним препаратом мелоксикамом, а також можуть свідчити на користь більшої безпеки цієї сполуки щодо СОШ, що й було нами показано раніше за дослідження ульцерогенної дії [5].

Отримані дані доводять, що глибоке розуміння механізмів дії НПЗЗ та їхнього впливу на патобіохімічні зміни за ревматичних та інших станів, які супроводжуються запальним і больовим синдромом, має вирішальне значення для їхнього належного застосування з урахуванням серйозних побічних ефектів.



**Вміст метаболітів нітроген монооксиду, гідроген сульфідів й активність NO-синтази та цистатіонін-γ-ліази в слизовій оболонці шлунка на 28 добу після моделювання ад'ювантного артриту в щурів під впливом сполуки В і мелоксикаму ( $M \pm m, n = 7$ )**

Група щурів	Вміст $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ , нмоль/г тканини	Активність NO-синтази, пмоль/хв • мг протеїну	Вміст гідроген сульфідів, нмоль/мг протеїну	Активність цистатіонін-γ-ліази, нмоль/хв • мг протеїну
Умовно здорові тварини (позитивний контроль)	$2,21 \pm 0,14$	$1,68 \pm 0,14$	$1,74 \pm 0,09$	$0,155 \pm 0,013$
Ад'ювантний артрит без лікування (негативний контроль)	$3,38 \pm 0,16^*$	$2,72 \pm 0,19^*$	$2,49 \pm 0,10^*$	$0,236 \pm 0,014^*$
Ад'ювантний артрит + Сполука В	$2,80 \pm 0,15^*, \#, \&$	$2,03 \pm 0,14^*, \#, \&$	$2,10 \pm 0,09^*, \#, \&$	$0,180 \pm 0,015^*, \#, \&$
Ад'ювантний артрит + Мелоксикам	$3,51 \pm 0,17^*$	$2,60 \pm 0,18^*$	$2,60 \pm 0,13^*$	$0,228 \pm 0,017^*$

### Висновок

Таким чином, отримано докази, що нове оригінальне похідне *N*-(трифлуорометилфеніл)-4-гідрокси-2,2-діоксо-1*H*-2λ<sup>6</sup>,1-бензотіазин-3-карбоксаміду виявляє виразну протизапальну дію на моделі системного

запального процесу в щурів, заступенем виразності якого воно співставляється з препаратом порівняння мелоксикамом, а за впливом на систему монооксиду азоту та гідроген сульфідів – перевершує референс-препарат.

1. Palmer G. M. Pain management in the acute care setting: Update and debates. *J Paediatr Child Health*. 2016. V. 52 (2). P. 213–220. <https://doi.org/10.1111/jpc.13134>.
2. Bindu S., Mazumder S., U. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochem Pharmacol*. 2020. V. 180. P.114147. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114147>.
3. Harirforoosh S., Asghar W., Jamali F. Adverse effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update of gastrointestinal, cardiovascular and renal complications. *J Pharm Pharm Sci*. 2013. V.16 (5). P. 821–847. <https://doi.org/10.18433/j3vw2f>.
4. Advances in NSAID development: evolution of diclofenac products using pharmaceutical technology. R. Altman, B. Bosch, K. Brune et al. *Drugs*. 2015. V. 75 (8). P.859–877. <https://doi.org/10.1007/s40265-015-0392-z>.
5. Crystal Habits and Biological Properties of *N*-(4-Trifluoromethylphenyl)-4-hydroxy-2,2-dioxo-1*H*-2λ<sup>6</sup>,1-benzothiazine-3-carboxamide. I. V. Ukrainets, L. A. Petrushova, A. I. Fedosov et al. *Sci. Pharm*. 2020. V. 88 (1). P.1. <https://doi.org/10.3390/scipharm88010001>.
6. Investigation of pharmacokinetics of *N*-(4-trifluoromethylphenyl)-4-methyl-2,2-dioxo-1*H*-2λ<sup>6</sup>,1-benzothiazine-3-carboxamide various crystalline modifications *in vivo*. P. S. Bondarenko, N. I. Voloshchuk, V. B. Larionov et al. *Biomedical and biosocial anthropology*. 2020. № 41. P. 46–51.
7. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. Київ: ВД «Авіцена», 2001. 528 с.
8. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. И. П. Западнюк, Б. В. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария. Киев : Вища школа, 1983. 383 с.
9. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии. Москва : Высшая школа, 1980. 272 с.
10. Мевх А. Т., Басевич В. В., Варфоломеев С. Д. Изучение эндопероксид-простагландин синтетазы микросомной фракции тромбоцитов человека. *Биохимия*. 1982. Т. 47, № 10. С. 1635–1639.
11. Гула Н. М., Косякова Г. В., Бердишев А. Г. Вплив *N*-стеароїлетаноламіну на NO-синтазний шлях генерації оксиду азоту в аорті та серці щурів із стрептозотоциніндукованим діабетом. *Укр. біохім. журн*. 2007. Т. 79, № 5. С. 153–158.
12. Коренман И. М. Методы определения органических соединений. Москва : Химия, 1975. 360 с.

13. Заїчко Н. В., Мельник А. В., Ольховський О. С., Заїчко К. О. Спосіб визначення H<sub>2</sub>S-продукуючої активності міокарда тварин: пат. 75683 Україна. № u2012 06388; заявл. 28.05.2012; опубл. 10.12.2012; Бюл. № 23. 3 с.
14. Заїчко Н. В., Пентюк Н. О., Мельник А. В. Спосіб визначення вмісту гідроген сульфїду в плазмі крові: пат. України на корисну модель № 52136 У МПК (2009) G01N 33/68.; заявник та патентовласник НДІ реабілітації інвалідів ВНМУ ім. М. І. Пирогова. № u 201003158; заявл. 19.03.2010; опубл. 10.08.2010; Бюл. № 15. 2 с.
15. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием программы Excel. Киев : Морион, 2000. 320 с.
16. Халафян А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. Учебник. Москва : ООО «Бином-Пресс», 2007. 512 с.
17. Khalil N. Y., Aldosari K. F. Meloxicam. *Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol.* 2020. V.45. P. 159–197. <https://doi.org/10.1016/bs.podrm.2019.10.006>.
18. Vane J. R., R. M. Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. *Inflamm Res.* 1998. V. 47, Suppl 2. P. S78–87. <https://doi.org/10.1007/s000110050284>.
19. Ibuprofen Safety at the Golden Anniversary: Are all NSAIDs the Same? A Narrative Review. G. Var-rassi, J. V. Pergolizzi, P. Dowling et al. *Adv Ther.* 2020. V. 37 (1). P. 61–82. <https://doi.org/10.1007/s12325-019-01144-9>.
20. Atkinson T. J., Fudin J. Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs for Acute and Chronic Pain Phys Med Rehabil. *Clin N Am.* 2020. V. 31 (2). P. 219–231. <https://doi.org/10.1016/j.pmr.2020.01.002>.
21. The role of hydrogen sulfide in gastrointestinal tract functioning. N. Voloshchuk, I. Taran, O. Pashynska et al. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences.* 2020. № 1 (33). P. 45–50.
22. Dual acting anti-inflammatory drugs: a reappraisal. A. Bertolini, A. Ottani, M. Sandrini. *Pharmacol Res.* 2001. V. 44 (6). P. 437–450. <https://doi.org/10.1006/phrs.2001.0872>.

**П. С. Бондаренко**

### **Дослідження впливу N-(трифлуорометилфеніл)-4-гідрокси-2,2-діоксо-1H-2λ<sup>6</sup>,1-бензотіазин-3-карбоксаміду на біохімічні показники запальної реакції в щурів за умов ад'ювантного артриту**

Проблема пошуку ефективних і безпечних засобів з протизапальною та знеболюючою діями залишається пріоритетним напрямом світової фармакології. Шляхом біозостеричної модифікації молекули оксикамів було отримано ряд нових біологічно активних сполук і встановлено сполуку-лідера.

*Мета дослідження* – вивчення протизапальної дії нового оригінального похідного бензотіазин-3-карбоксаміду за динамікою гематологічних і біохімічних показників у щурів на моделі автоімунного запального процесу (ад'ювантного артриту).

Системний запальний процес моделювали введенням ад'юванта Фрейнда, лікування новою сполукою та референс-препаратом (мелоксикамом) проводили з 14 по 28 день внутрішньошлунково в дозах, що відповідають їхньому ED<sub>50</sub> за протизапальною активністю.

Встановлено, що N-(трифлуорометилфеніл)-4-гідрокси-2,2-діоксо-1H-2λ<sup>6</sup>,1-бензотіазин-3-карбоксамід (сполука В) виявляє виразну протизапальну дію на моделі системного запального процесу в щурів, що проявлялось збереженням маси тіла, менш виразним проявом запального процесу в периферичній крові (ШОЕ та лейкоцитозу), а також більш потужним стримуванням ініціації біохімічних маркерів запалення (інтерлейкіну-1β, простагландин-ендопероксид синтази, системи нітроген монооксиду та гідроген сульфїду). За ступенем виразності протизапального ефекту похідне бензотіазин-3-карбоксамідів співставляється з мелоксикамом, а за впливом на систему монооксиду азоту та гідроген сульфїду – перевершує референс-препарат.

Отримані дані доводять, що глибоке розуміння механізмів дії нестероїдних протизапальних засобів та їхнього впливу на патобіохімічні зміни за умов ревматичних й інших станів, які супроводжуються запальним і больовим синдромом, має вирішальне значення для їхнього належного застосування з урахуванням серйозних побічних ефектів.

*Ключові слова:* протизапальна дія, N-(трифлуорометилфеніл)-4-гідрокси-2,2-діоксо-1H-2λ<sup>6</sup>,1-бензотіазин-3-карбоксамід, біохімічні показники, ад'ювантний артрит, щури

**П. С. Бондаренко**

### **Исследование влияния N-(трифлуорометилфенил)-4-гидрокси-2,2-диоксо-1H-2λ<sup>6</sup>,1-бензотиазин-3-карбоксамида на биохимические показатели воспалительной реакции у крыс с адьювантным артритом**

Проблема поиска эффективных и безопасных препаратов с противовоспалительным и обезболивающим действием остается приоритетным направлением мировой фармакологии. Путем биозостерической модификации молекулы оксикама был получен ряд новых биологически активных соединений и установлено соединение-лидер.

---

*Цель исследования* – изучить противовоспалительное действие нового оригинального производного бензотиазин-3-карбоксамид (соединение В) по динамике гематологических и биохимических показателей у крыс на модели аутоиммунного воспалительного процесса (адьювантного артрита).

Системный воспалительный процесс моделировали введением адьюванта Фрейнда, лечение новым веществом и референс-препаратом (мелоксикамом) проводили внутривенно с 14 по 28 день в дозах, соответствующих их  $ED_{50}$  по противовоспалительной активности.

Установлено, что *N*-(трифлуорометилфенил)-4-гидрокси-2,2-диоксо-1*H*-2λ<sup>6</sup>,1-бензотиазин-3-карбоксамид (соединение В) проявляет выраженное противовоспалительное действие на модели системного воспалительного процесса у крыс, что проявлялось сохранением массы тела, менее выраженным проявлением воспалительного процесса в периферической крови (СОЭ и лейкоцитоза), а также более мощным сдерживанием инициации биохимических маркеров воспаления (интерлейкина-1β, простагландин-эндопероксид синтазы, системы оксида азота и гидроген сульфида).

По степени выраженности противовоспалительного эффекта производное бензотиазин-3-карбоксамид сопоставляется с мелоксикамом, а по влиянию на систему оксида азота и гидроген сульфида превосходит референс-препарат.

Полученные данные показывают, что глубокое понимание механизмов действия нестероидных противовоспалительных препаратов и их влияния на патобиохимические изменения при ревматических и других состояниях, сопровождающихся воспалительным и болевым синдромом, имеет решающее значение для их надлежащего применения с учетом серьезных побочных эффектов.

*Ключевые слова:* противовоспалительное действие, *N*-(трифлуорометилфенил)-4-гидрокси-2,2-диоксо-1*H*-2λ<sup>6</sup>,1-бензотиазин-3-карбоксамид, биохимические показатели, адьювантный артрит, крысы

**P. S. Bondarenko**

### **Investigation of *N*-(trifluoromethylphenyl)-4-hydroxy-2,2-dioxo-1*H*-2λ<sup>6</sup>,1-benzothiazine-3-carboxamide influence on hematological and biochemical inflammatory markers in rats with adjuvant arthritis**

The problem of development of effective and safe drugs with anti-inflammatory and analgesic effects remains a priority in world pharmacology. By bioisosteric modification of the oxicam' molecule, a number of new biologically active compounds were obtained, and a leader compound was established. In this work, a study of the anti-inflammatory effect of a new original derivative of benzothiazine-3-carboxamide by the dynamics of hematological and biochemical parameters in rats with autoimmune inflammatory process (adjuvant arthritis) was performed.

The systemic inflammatory process was simulated by the administration of Freund's adjuvant. A new compound and reference drug (meloxicam) were administered per os from 14 to 28 days in doses corresponding to their  $ED_{50}$  of anti-inflammatory activity.

It was found that *N*-(trifluoromethylphenyl)-4-hydroxy-2,2-dioxo-1*H*-2λ<sup>6</sup>,1-benzothiazine-3-carboxamide (compound B) has a pronounced anti-inflammatory effect in the of systemic inflammation in rats, which was manifested by preservation body weight, less pronounced manifestation of the inflammatory process in the peripheral blood, as well as more potent inhibition of the initiation of biochemical markers of inflammation (IL-1β, PgH synthase, nitrogen monoxide and hydrogen sulfide systems). In terms of the severity of the anti-inflammatory effect, the benzothiazine-3-carboxamide derivative is comparable to meloxicam, and in terms of its effect on the system of nitrogen monoxide and hydrogen sulfide, it is superior to the reference drug.

The data obtained prove that a deep understanding of the mechanisms of NSAIDs action and their influence on pathobiochemical changes in rheumatic and other conditions accompanied by inflammatory and pain syndroms is crucial for their proper use, taking into account the serious side effects.

*Key words:* anti-inflammatory activity, *N*-(trifluoromethylphenyl)-4-hydroxy-2,2-dioxo-1*H*-2λ<sup>6</sup>,1-benzothiazine-3-carboxamide, biochemical markers, adjuvant arthritis, rats

---

Надійшла: 12 травня 2021 р.

Прийнята до друку: 15 червня 2015 р.

**Контактна особа:** Бондаренко Павло Сергійович, аспірант, кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, буд. 56, вул. Пирогова, м. Вінниця, 21018. Тел.: + 38 0 96 974 21 06. Електронна пошта: bondarenkopavel1506@gmail.com