

На правах рукописи

ПОПОВ НИКИТА СЕРГЕЕВИЧ

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ
НОВОГО АМИНОКИСЛОТНОГО ПРОИЗВОДНОГО
ТИАДИАЗОЛА**

14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Тверь – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Тверской государственной медицинской академии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Демидова Марина Александровна**

Официальные оппоненты:

Зарубина Ирина Викторовна — доктор биологических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, старший преподаватель кафедры фармакологии;

Яснецов Виктор Владимирович — доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной и клинической фармакологии.

Ведущая организация — федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится 31 мая 2019 года в 12:00 на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.071.02 на базе ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» и на сайте организации: <http://www.bsu.edu.ru/bsu>.

Автореферат разослан « _____ » _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат медицинских наук,
доцент



Гудырев Олег Сергеевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В настоящее время нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) являются одними из наиболее широко используемых лекарственных средств во всем мире (Billy C.A., 2018; Pathan S. 2018). Известно, что наряду с противовоспалительным, обезболивающим, жаропонижающим эффектами, многие НПВС вызывают ряд серьезных побочных реакций, в том числе эрозивно-язвенные поражения желудочно-кишечного тракта, выраженные изменения функции печени, почек и другие нарушения (Sriuttha P., 2018). Появление препаратов, обладающих способностью избирательно угнетать активность циклооксигеназы-2, не позволило полностью решить проблему их безопасности (Каратаев А.Е., 2017). В связи с этим в настоящее время по-прежнему актуальным является поиск новых противовоспалительных средств с улучшенным профилем безопасности, в том числе не обладающих ulcerогенностью (Amin N., 2017) Свойствами НПВС обладают препараты различной химической структуры. Среди них имеются производные кислот (индолуксусной, фенилуксусной, пропионовой, салициловой), оксикамов, коксибов, сульфоанилидов. Одной из перспективных групп для создания препаратов этой группы являются производные тиadiaзола.

Степень разработанности темы. Среди соединений этого ряда известны вещества с бронхолитической, противовоспалительной, обезболивающей, антиоксидантной, противовирусной, антибактериальной, гепатопротекторной, антипролиферативной, нейропротекторной и другими видами активности (Yusuf M., 2017; Arpit K., 2016; Flefel E. 2017; Muhammad Z., 2017). Преимуществом известных производных тиadiaзола являются низкая токсичность и большая широта терапевтического действия. Атом серы тиadiaзола придает этим веществам липофильные свойства, что обеспечивает их проницаемость через биологические мембраны и более высокую биодоступность. Известно, что некоторые производные тиadiaзолиламинов органических кислот (янтарной, пропионовой, оксоэтановой и других) обладают противовоспалительной и обезболивающей активностью (Казайшвили Ю.Г., 2013). Существуют сведения, что наличие ядра тиadiaзола повышает избирательность этих соединений к циклооксигеназе-2 (Ragab F., 2017). Перспективным является изучение фармакологической активности тиadiaзолового производного ацексамовой кислоты. Наличие противовоспалительных свойств в сочетании с гастропротективными свойствами у производных ацексамовой кислоты подтверждено рядом исследований (Kim T., 2013; Bulbena O, 1993; Guillard O., 1987). Кроме того, доказано, что данное соединение оказывает стимулирующее влияние на течение репаративных процессов (Петрова М.Б., 2014), в том числе на модели язвенного поражения слизистой желудка (Bulbena O, 1993).

Цель исследования: экспериментальная оценка специфической фармакологической активности и безопасности ацексазоламида — нового аминокислотного производного тиadiaзола.

Задачи исследования:

1. Определить значение DL_{50} нового аминокислотного производного тиадиазола с рабочим названием ацексазоламид при внутрижелудочном введении мышам.

2. Определить значение индекса ulcerогенности нового аминокислотного производного тиадиазола при однократном и субхроническом внутрижелудочном введении крысам по сравнению с индометацином.

3. Оценить влияние нового аминокислотного производного тиадиазола на течение острого экссудативного и хронического пролиферативного воспаления у крыс по сравнению с кетопрофеном.

4. Оценить анальгетическую активность нового аминокислотного производного тиадиазола на моделях термического раздражения лапы у мышей, механического раздражения воспаленной лапы и химического болевого раздражения брюшины у крыс по сравнению с кетопрофеном.

5. Оценить жаропонижающую активность нового аминокислотного производного тиадиазола на модели дрожжевой лихорадки у крыс по сравнению с кетопрофеном.

6. Исследовать влияние нового аминокислотного производного тиадиазола на выраженность реакции активной кожной анафилаксии у мышей.

7. Оценить влияние нового аминокислотного производного тиадиазола на течение репаративных процессов при термическом ожоге у крыс.

Научная новизна исследования. Впервые в экспериментах на животных было выявлено наличие противовоспалительной, анальгетической, жаропонижающей, противоожоговой и противоаллергической активности у ацексазоламида – нового аминокислотного производного тиадиазола.

Впервые показано, что высокая эффективность соединения сочетается с низкой токсичностью и ulcerогенностью. Так, было установлено, что исследуемое соединение относится к веществам 3-го класса опасности в соответствии с ГОСТом 12.1.007-76, а ulcerогенность при однократном и субхроническом введении была достоверно меньше, чем у индометацина.

Установлено, что противовоспалительная активность нового производного тиадиазола и ацексамовой кислоты при формалин-индуцированном отеке лапы и хронической пролиферативной воспалительной реакции у крыс была выше, чем у кетопрофена в эквивалентной дозе.

Отмечено, что обезболивающая активность нового аминокислотного производного тиадиазола при химическом раздражении брюшины у крыс достоверно не отличалась от кетопрофена.

Впервые было показано наличие у исследуемого соединения умеренной жаропонижающей, противоаллергической и противоожоговой активности.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты работы имеют как теоретическое, так и практическое значение, и являются основанием для проведения дальнейших расширенных доклинических исследований нового амино-

кислотного производного тиadiaзола в качестве перспективного нестероидного противовоспалительного средства.

Результаты проведенного исследования были внедрены в учебную и научную работу кафедр управления и экономики фармации, кафедры фармакологии и клинической фармакологии, клинико-диагностической лаборатории ФГБОУ ВО Тверского ГМУ Минздрава России, а также ОАО «ВНЦ БАВ».

Методология и методы исследования. В исследовании был реализован комплексный подход к экспериментальной оценке безопасности и эффективности нового аминокислотного производного тиadiaзола как потенциального нестероидного противовоспалительного средства. Эксперименты выполнены согласно руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств (Миронов А.Н., 2012).

Исследование эффективности и безопасности нового аминокислотного производного тиadiaзола было проведено в экспериментальной лаборатории Научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России с использованием современных высокоинформативных методов *in vivo* и *in vitro*, позволяющих с высокой степенью достоверности оценить эффекты исследуемого вещества.

Положения, выносимые на защиту:

1. Ацексазоламид обладает противовоспалительной активностью при остром экссудативном и хроническом пролиферативном воспалении.
2. Ацексазоламид обладает анальгезирующей активностью при механическом, химическом и термическом раздражении.
3. Ацексазоламид обладает жаропонижающей активностью.
4. Новое аминокислотное производное тиadiaзола обладает противоожоговой активностью.
5. Новое аминокислотное производное тиadiaзола обладает низкой ульцерогенностью по сравнению с индометацином.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов подтверждается значительным объемом проведенных экспериментальных исследований с использованием современных методических подходов в соответствии с руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств (Миронов А.Н., 2012) и общепринятых критериев статистической обработки данных.

Основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на I Российской конференции по медицинской химии (8-12 сентября 2013 г., Москва), на Международной научно-практической конференции «Наука и образование в XXI веке» (30 сентября 2013 г., Тамбов), на Международной научно-практической конференции «Теория и практика современной науки» (8-9 октября 2013 г., Москва), на Международной научно-практической конференции «Наука, образование, общество: проблемы и перспективы развития» (28 февраля 2014 г., Тамбов) на расширенном заседании кафедры управления и экономики фармации с курсами фармакогнозии, фармацевтической техноло-

гии, фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО Тверского ГМУ Минздрава России (г. Тверь) (23.03.2018 г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 17 научных работ, в том числе в рецензируемых научных изданиях, рекомендуемых ВАК РФ, 12 публикаций: 8 статей, 1 патент на изобретение и 3 свидетельства на базу данных.

Личный вклад автора. Личный вклад автора состоит в непосредственном выполнении всех этапов диссертационного исследования по оценке эффективности и безопасности нового аминокислотного производного тиадиазола, углубленном анализе отечественной и зарубежной литературы по теме исследования, анализе, статистической обработке, интерпретации и систематизации полученных данных с последующим описанием результатов работы, написании и оформлении рукописи диссертации, а также основных публикаций.

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 150 страницах машинописного текста, результаты исследования сопровождаются 20 таблицами и 19 рисунками.

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов и списка литературы, включающего 213 источников, в том числе 172 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Исследования были выполнены в экспериментальной лаборатории ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002, ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009, «Правил лабораторной практики», утвержденных приказом Минздрава РФ от 23 августа 2010 г. № 708н, с соблюдением «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Directive 2010/63/EU). Проведение экспериментальных исследований одобрено Этическим комитетом ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России.

Экспериментальные исследования выполнены на 336 белых аутбредных крысах Wistar обоего пола массой 180-220 г., 72 белых аутбредных мышах SHK обоего пола массой 19-23 г., 16 инбредных мышах Balb/C мужского пола массой 21-23 г. Исследования проводили в соответствии с методическими рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств (Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, Москва, 2012). Перед постановкой эксперимента животные проходили карантин в течение 14 дней.

Объектом исследования явилось новое производное тиадиазола с рабочим названием ацексазоламид, синтезированное в ОАО «ВНЦ БАВ» (г. Старая Купавна) проф. С.Я. Скачиловой. Структурная формула ацексазоламида представлена на рисунке 1.

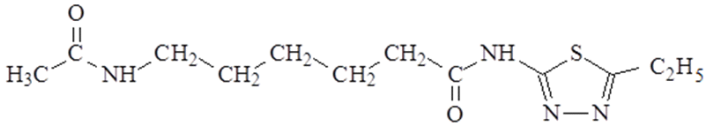


Рисунок 1 – Химическая структура ацексазоламида (2-(5-этил-1,3,4-тиадиазолил) амид 2-ацетиламиногексановой кислоты)

Структура ацексазоламида подтверждена спектральными данными: масс-спектрами I и II порядка, ИК-спектрами и ЯМР-спектрами и элементарным анализом, индивидуальность – результатами высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Активная фармацевтическая субстанция ацексазоламида представляет собой белый с желтоватым оттенком мелкокристаллический порошок без запаха с молярной массой 284,2 г/моль, который практически нерастворим в воде и органических растворителях.

Оценка безопасности ацексазоламида включала в себя определение острой токсичности, ulcerогенности у грызунов. Значение DL_{50} для ацексазоламида определяли методом пробит-анализа Литчфильда и Уилкоксона в модификации В.Б. Прозоровского (Прозоровский В.Б., 2007) при однократном пероральном введении мышам и крысам. Ульцерогенность ацексазоламида оценивали по значению индекса Паулса (ИП) (Pauls F., 1947) при остром и субхроническом внутрижелудочном введении крысам.

Противовоспалительную активность ацексазоламида оценивали на моделях формалинового отека лапы (Winter C., 1962) и хронического пролиферативного воспаления (фетровая гранулема) у крыс (Meier R., 1950). Оценку обезболивающей активности проводили в тесте горячей пластины у мышей (Calcutt N., 2004), химического болевого раздражения брюшины у крыс (Koster R., 1959) и воспалительной гипералгезии при механическом раздражении воспаленной лапы у крыс (Randal L., Selitto J., 1957). Жаропонижающую активность ацексазоламида оценивали на модели дрожжевой лихорадки у крыс (Loux J., 1972). Оценку противоаллергической активности ацексазоламида проводили на модели активной кожной анафилаксии у мышей (Фримель Г., 1987). Противоожоговую активность ацексазоламида оценивали на модели термического ожога кожи у крыс (Клебановас Ю., 2005).

Оценку морфологических изменений в коже крыс при термическом ожоге осуществляли при помощи бинокулярного микроскопа «Микромед» при увеличении в 400 раз. С помощью окуляр-микрометра проводили биометрию участков образующихся тканей (Петрова М.Б., 2011).

Протокол исследования. Обоснование доз. Ацексазоламид вводили подопытным животным внутрижелудочно в виде водной суспензии, стабилизированной добавлением 0,5% Твина 80.

В качестве препаратов сравнения были использованы НПВП –кетопрофен (Кетонал 50 мг/мл 2 мл, ЗАО «Лек», Словения, серия СУ3500) и индометацин

(таблетки, 25 мг ОАО «Биосинтез», Россия, серия 30410), глюкокортикостероид преднизолон (раствор для внутривенного и внутримышечного введения, 30 мг/мл 1 мл, Аджио Фармацевтикалз ЛТД, Индия, серия IPRB4018). Животным контрольной группы вводили изотонический раствор натрия хлорида.

Оценку ulcerогенности ацексазоламида проводили на крысах в дозах 1/5 DL₅₀ и 1/20 DL₅₀ (Шварц Г.Я., 2012). Препарат сравнения индометацин вводили подопытным животным в средних ulcerогенных дозах для острого и субхронического введения 10,0 мг/кг и 2,5 мг/кг соответственно (Сюбаев Р.Д., 1986).

При изучении специфической активности ацексазоламид использовали в четырех дозах (1/5 DL₅₀, 1/10 DL₅₀, 1/20 DL₅₀, 1/100 DL₅₀). При проведении сравнительной оценки активности ацексазоламида с другими НПВП препараты вводили в эквитоксических дозах (1/20 DL₅₀).

Протокол исследования включал следующие этапы:

1. Определение DL₅₀ ацексазоламида при однократном внутрижелудочном введении мышам и крысам.

2. Оценка ulcerогенности ацексазоламида по сравнению с индометацином при однократном внутрижелудочном введении крысам в дозе 1/5 DL₅₀.

3. Оценка ulcerогенности ацексазоламида по сравнению с индометацином при субхроническом внутрижелудочном введении крысам в дозе 1/20 DL₅₀.

4. Оценка противовоспалительной активности ацексазоламида на модели формалинового отека лапы у крыс.

5. Оценка противовоспалительной активности ацексазоламида на модели хронического пролиферативного воспаления (фетровая гранулема) у крыс.

6. Оценка обезболивающей активности ацексазоламида на модели горячей пластины у мышей.

7. Оценка обезболивающей активности ацексазоламида на модели химического болевого раздражения брюшины у крыс (уксусные корчи).

8. Оценка обезболивающей активности ацексазоламида на модели механического раздражения воспаленной лапы у крыс.

9. Оценка жаропонижающей активности ацексазоламида на модели дрожевой лихорадки у крыс.

10. Оценка противоаллергической активности ацексазоламида на модели активной кожной анафилаксии у мышей.

11. Оценка противоожоговой активности ацексазоламида на модели термического ожога кожи у крыс.

Статистические методы обработки результатов исследования. Результаты исследований обработаны статистически с применением программного обеспечения «AnalystSoft Inc., BioStat – программа статистического анализа. Версия 2009». Для всех полученных данных была применена описательная статистика. Тип распределения случайных величин определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для ряда выборок, имеющих нормальное распределение, вычисляли среднее значение (M) и стандартную ошибку среднего (m). В случаях ненормального распределения рассчитывали медиану (Me) и квартильный размах

(IQR). Для оценки достоверности различий выборок, имеющих нормальное распределение, применяли параметрический t-критерий Стьюдента. За достоверное принимали различие при уровне вероятности 95% и более ($p < 0,05$). Межгрупповые различия в случае ненормального распределения анализировали непараметрическим методом Манна-Уитни.

Результаты исследования

Анализ результатов экспериментального исследования острой токсичности показал, что при внутрижелудочном введении подопытным мышам ацексазоламида в дозе 500 мг/кг гибели подопытных животных в течение 14 дней не наблюдалось, тогда как при применении анализируемого соединения в дозе 1000 мг/кг погибли 4-е животных из 6-и, а в дозах 1500 мг/кг и 2250 мг/кг – все подопытные мыши. Значения DL_{16} , DL_{50} , DL_{84} при внутрижелудочном введении мышам составили 645,7 мг/кг, 861,0 мг/кг (95% ДИ, 754,9 – 967,1) и 1148,2 мг/кг соответственно.

На основании проведенного исследования в соответствии с ГОСТом 12.1.007-76 ацексазоламид можно отнести к веществам 3-го класса опасности.

При оценке безопасности ацексазоламида исследовали его ulcerогенную активность при однократном и субхроническом внутрижелудочном применении у крыс по сравнению с индометацином.

Было выявлено, что при однократном введении индометацина (10 мг/кг, 1/5 DL_{50}) через 3 часа у всех подопытных крыс развивались деструктивные изменения слизистой и серозной оболочек желудка (рисунок 2). Отмечено значительное число точечных кровоизлияний ($8,31 \pm 0,91$ на одно животное), в то время как число эрозий и язв было соответственно $1,21 \pm 0,39$ и $2,16 \pm 0,45$ на животное. Индекс Пауlsa (ИП) составил 11,68.

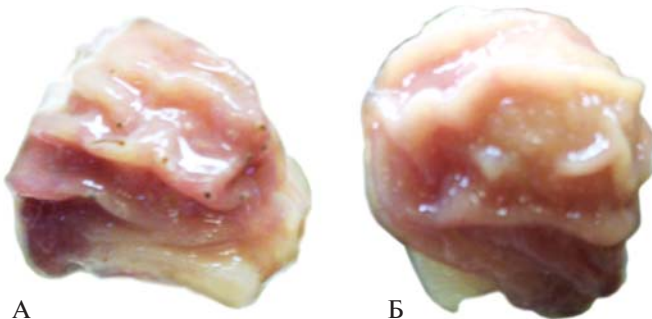


Рисунок 2 – Слизистая оболочка желудков крыс через 3 часа после однократного внутрижелудочного введения индометацина в дозе 10 мг/кг (А) и ацексазоламида в дозе 86,1 мг/кг (Б)

В серии опытов с однократным внутрижелудочным введением ацексазоламида (86,1 мг/кг, 1/5 DL_{50}) грубых язвенных повреждений и обширных кровотечений со стороны слизистой оболочки желудка обнаружено не было (рисунок 2). Одна-

ко, у 35% подопытных животных было выявлено наличие незначительных деструктивных изменений. ИП у крыс, получавших однократно ацексазоламид, составил 0,83, что в 14 раз ($p < 0,01$) меньше, чем в группе сравнения.

При субхроническом внутрижелудочном введении индометацина (2,5 мг/кг, $1/20 DL_{50}$) на 5-й день исследования у всех подопытных крыс отмечали выраженные деструктивные изменения слизистой оболочки желудка (рисунок 3).

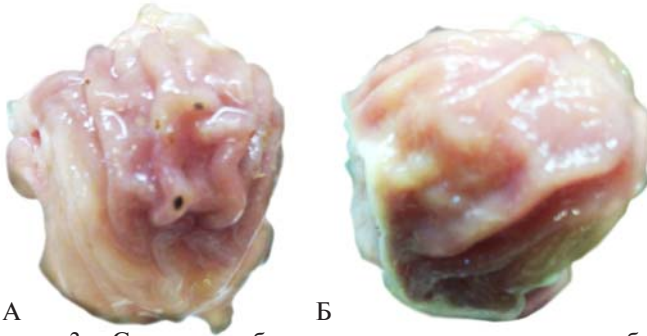


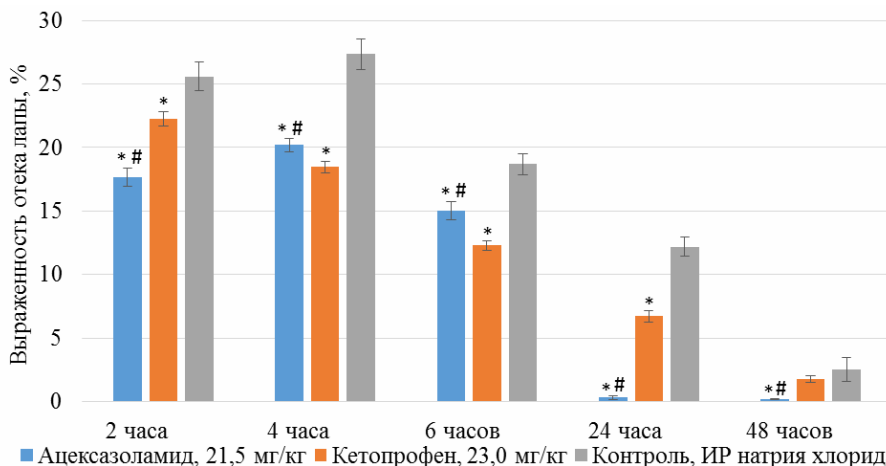
Рисунок 3 – Слизистая оболочка желудков крыс после субхронического внутрижелудочного введения индометацина в дозе 2,5 мг/кг (А) и ацексазоламида в дозе 21,5 мг/кг (Б)

Число кровоизлияний, эрозий и язв составило соответственно $6,41 \pm 0,84$, $2,11 \pm 0,41$ и $3,24 \pm 0,44$ на одно животное. При этом ИП у был равен 11,76.

В сериях опытов с субхроническим введением ацексазоламида (21,5 мг/кг, $1/20 DL_{50}$), наличие деструктивных изменений было выявлено у 15% подопытных животных. Обнаруженные деструкции имели характер незначительных точечных кровоизлияний, число которых на одно животное составило $1,33 \pm 0,34$, что было в среднем в 8,8 раза ($p < 0,05$) меньше, чем у животных, получавших внутрижелудочно индометацин. ИП по критерию общего числа деструкций в слизистой оболочке желудка составил 0,19 в опытной группе, что в 61,9 раза ($p < 0,01$) меньше, чем в группе сравнения.

На следующем этапе экспериментального исследования оценивали противовоспалительную, анальгетическую и жаропонижающую активности ацексазоламида по сравнению с эффектами кетопрофена.

На моделях острого экссудативного и хронического пролиферативного воспаления у крыс было выявлено наличие у ацексазоламида выраженной противовоспалительной активности. Так, при внутрижелудочном введении ацексазоламида (21,5 мг/кг, $1/20 DL_{50}$) выраженность формалин-индуцированного отека лапы у крыс через 2 часа после индукции воспаления была в 1,4 раза ($p < 0,05$) раз меньше, чем в контроле, и в 1,3 раза ($p < 0,05$) меньше, чем у животных, получавших кетопрофен в эквитоксической дозе. Через 24 часа после введения формалина у подопытных животных, получавших ацексазоламид отека лапы отмечено не было, тогда как у подопытных крыс, получавших кетопрофен, отек лапы сохранялся и был на 45,1% ($p < 0,05$) меньше, чем в контроле (рисунок 4).



Примечание: * – различие с контролем достоверно ($p < 0,05$), # – различие с препаратом сравнения достоверно ($p < 0,05$).

Рисунок 4 – Влияние ацексазоламида и кетопрофена на выраженность формалин-индуцированного отека лапы у крыс

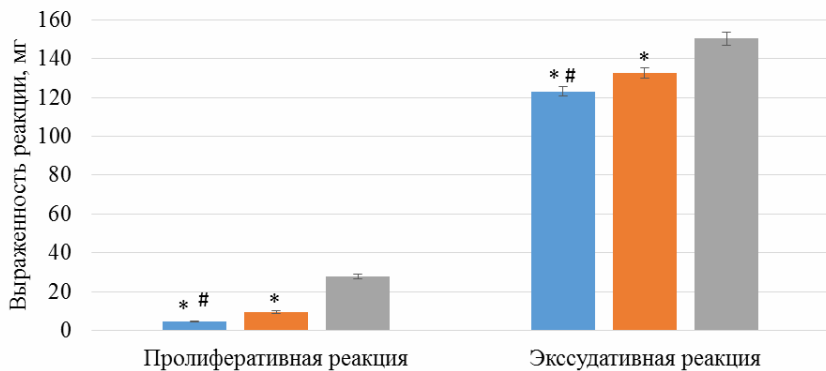
Следует отметить, что при внутрижелудочном введении ацексазоламида наибольшая степень угнетения отека лапы была отмечена через 2 часа после его индукции, тогда как при введении кетопрофена через 4 часа.

На основании анализа зависимости противовоспалительного эффекта ацексазоламида при формалин-индуцированном отеке лапы у крыс от дозы ($1/5 DL_{50}$, $1/10 DL_{50}$, $1/20 DL_{50}$, $1/100 DL_{50}$) было рассчитано значение ED_{50} , которое составило 13,8 (95% ДИ: 8,2 – 19,4) мг/кг.

Наличие противовоспалительной активности у ацексазоламида было подтверждено при хроническом пролиферативном воспалении у крыс при моделировании «фетровой» гранулемы.

Отмечено, что в сериях опытов с использованием ацексазоламида уменьшалась выраженность как экссудативной, так и пролиферативной фазы воспаления. Так, экссудативная реакция у подопытных крыс, получавших ацексазоламид (21,5 мг/кг, $1/20 DL_{50}$), была в 1,2 раза ($p < 0,05$) меньше, чем в контроле и в среднем в 1,1 раза ($p < 0,05$) меньше, чем при использовании кетопрофена в эквитоксической дозе. Отмечено, что и пролиферативная реакция у подопытных крыс, получавших ацексазоламид (21,5 мг/кг, $1/20 DL_{50}$), была меньше, чем в контроле и при использовании кетопрофена в среднем в 6,0 и 2,0 раза ($p < 0,05$) соответственно (рисунок 5).

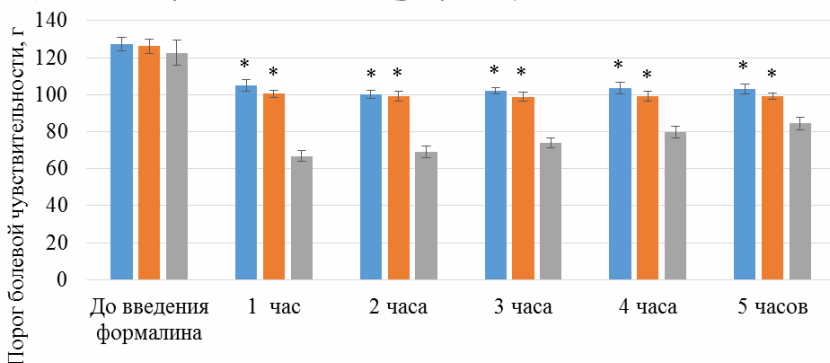
На моделях термического раздражения лапы у мышей, химического болевого раздражения брюшины у крыс, механического раздражения воспаленной лапы у крыс было выявлено наличие у ацексазоламида выраженной анальгетической активности.



- Ацецсалоламид, 21,5 мг/кг ■ Кетопрофен, 23,0 мг/кг ■ Контроль, ИР натрия хлорида
Примечание: * – различие с контролем достоверно ($p < 0,05$), # – различие с препаратом сравнения достоверно ($p < 0,05$).

Рисунок 5 – Влияние ацецсалоламида и кетопрофена на течение хронического пролиферативного воспаления у крыс

Так, на модели механического раздражения воспаленной лапы у крыс до введения формалина нагрузка на воспаленную лапу, вызывающая болевые ощущения у животного (писк, отдергивание конечности), составила $122,5 \pm 6,8$ г ($p < 0,05$). Однако, через 3 часа после введения формалина порог болевой чувствительности снизился в среднем до $66,7 \pm 3,1$ г ($p < 0,05$), что в 1,8 раза ($p < 0,05$) меньше, чем до индукции воспаления (рисунок 6).



- Ацецсалоламид, 21,5 мг/кг ■ Кетопрофен, 23 мг/кг ■ Контроль, ИР натрия хлорида

Примечание: * – различие с контролем достоверно ($p < 0,05$).

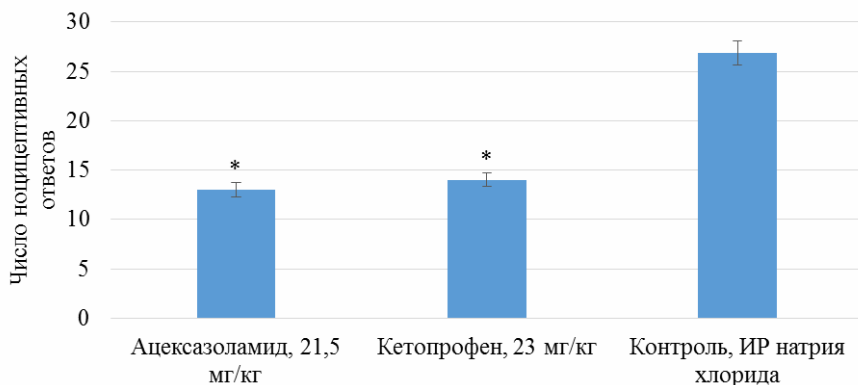
Рисунок 6 – Влияние ацецсалоламида и кетопрофена на порог болевой чувствительности при механическом раздражении воспаленной лапы у крыс

При внутривенном введении ацексазоламида (21,5 мг/кг, 1/20 DL₅₀) и кетопрофена (23,0 мг/кг, 1/20 DL₅₀) отмечалось существенное снижение выраженности воспалительной гипералгезии. Так, через 3 часа после введения формалина порог болевой чувствительности у крыс, получавших ацексазоламид (21,5 мг/кг, 1/20 DL₅₀) и кетопрофен (23,0 мг/кг, 1/20 DL₅₀) снизился соответственно в 1,21 раза ($p < 0,05$) и 1,25 раза ($p < 0,05$). Достоверных различий между активностью ацексазоламида и кетопрофена в этом отношении обнаружено не было.

На основании анализа зависимости анальгетического эффекта ацексазоламида в тесте механического раздражения воспаленной лапы у крыс от дозы (1/5 DL₅₀, 1/10 DL₅₀, 1/20 DL₅₀, 1/100 DL₅₀) было рассчитано значение ED₅₀, которое составило 14,0 (95% ДИ: 8,3 – 19,6) мг/кг.

Наличие анальгетической активности у ацексазоламида было подтверждено при химическом болевом раздражении брюшины у крыс, вызванном введением 0,75% раствора уксусной кислоты (0,1 мл/10 г массы тела).

Результаты исследования показали, что у животных группы контроля число специфических ноцицептивных ответов при химическом раздражении брюшины составило $26,8 \pm 1,2$ за 15 минут (рисунок 7), в то время как при использовании ацексазоламида (21,5 мг/кг, 1/20 DL₅₀) число специфических ноцицептивных ответов было в среднем в 2,1 раза ($p < 0,05$) меньше, чем в контроле. Достоверных отличий обезболивающей активности кетопрофена и исследуемого соединения при химическом раздражении брюшины у крыс при введении в эквитоксических дозах (1/20 DL₅₀) обнаружено не было.

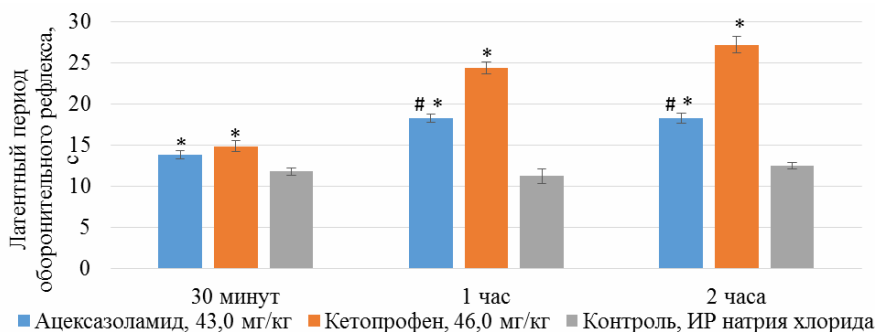


Примечание: * – различие с контролем достоверно ($p < 0,05$).

Рисунок 7 – Влияние ацексазоламида и кетопрофена на число специфических ноцицептивных ответов (корчей) при химическом болевом раздражении брюшины у крыс

На основании анализа зависимости анальгетического эффекта ацексазоламида в тесте химического болевого раздражения брюшины у крыс от дозы (1/5 DL₅₀, 1/10 DL₅₀, 1/20 DL₅₀, 1/100 DL₅₀) было рассчитано значение ED₅₀, кото-

рое составило 25,0 (95% ДИ: 15,3 – 34,7) мг/кг. Результаты теста горячей пластины у мышей подтвердили наличие обезболивающей активности у ацексазоламида. Было обнаружено, что при помещении подопытных мышей группы контроля на горячую поверхность с температурой 55 °С время до появления оборонительного рефлекса составило в среднем 11,3±0,9 с. Отмечено, что через 30 минут, 1 час и 2 часа после введения ацексазоламида (43,0 мг/кг, 1/20 DL₅₀) время до появления оборонительного рефлекса было соответственно в среднем в 1,3; 2,2; 2,2 раза ($p<0,05$) выше, чем в контроле. Через 1 и 2 часа наблюдения ацексазоламид уступал кетопрофену (46,0 мг/кг, 1/20 DL₅₀) по обезболивающей активности соответственно в 1,3 и 1,5 раз ($p<0,05$) (рисунок 8).

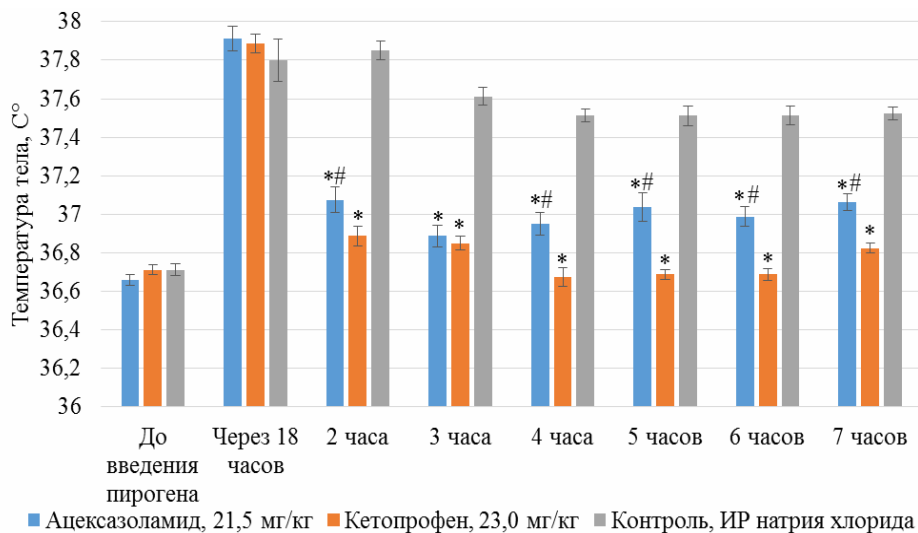


Примечание: * – различие с контролем достоверно ($p<0,05$), # – различие с препаратом сравнения достоверно ($p<0,05$).

Рисунок 8 – Влияние ацексазоламида и кетопрофена на порог болевой чувствительности в тесте горячей пластины у мышей

На основании анализа зависимости аналгетического эффекта ацексазоламида в тесте термического раздражения лапы у мышей от дозы (1/5 DL₅₀, 1/10 DL₅₀, 1/20 DL₅₀, 1/100 DL₅₀) было рассчитано значение ED₅₀, которое составило 25,6 (95% ДИ: 15,1 – 36,0) мг/кг.

На модели дрожжевой лихорадки у крыс было выявлено наличие у ацексазоламида выраженной жаропонижающей активности. Было отмечено, что максимальная гипертермическая реакция у крыс развивалась через 18 часов после введения 20% суспензии пекарских дрожжей и у животных контрольной группы составила 0,95±0,12°С ($p<0,05$). Внутрижелудочное введение ацексазоламида (21,5 мг/кг, 1/20 DL₅₀) и кетопрофена (23,0 мг/кг, 1/20 DL₅₀) на фоне максимального повышения температуры приводило к снижению гипертермической реакции. Так, через 2 часа после внутрижелудочного введения ацексазоламида температура подопытных крыс снизилась на 0,83±0,06°С ($p<0,05$). Однако, по жаропонижающей активности исследуемый препарат уступал кетопрофену, после применения которого через 2 часа гипертермическая реакция снизилась на 1,0±0,05°С ($p<0,05$). Дальнейшее наблюдение позволило выявить более высокую жаропонижающую активность кетопрофена по сравнению с ацексазоламидом, применяемых в эквитоксических дозах (рисунок 9).



Примечание: * – различие с контролем достоверно ($p < 0,05$), # – различие с препаратом сравнения достоверно ($p < 0,05$).

Рисунок 9 – Влияние ацексазоламида и кетопрофена на выраженность гипертермической реакции у крыс в тесте дрожжевой лихорадки

На основании анализа зависимости жаропонижающего эффекта ацексазоламида в тесте дрожжевой лихорадки у крыс от дозы ($1/5 DL_{50}$, $1/10 DL_{50}$, $1/20 DL_{50}$, $1/100 DL_{50}$) было рассчитано значение ED_{50} , которое составило 31,9 (95% ДИ: 19,2 – 44,5) мг/кг.

Исследования выполненные с использованием модели активной кожной анафилаксии (рАКА) у мышей показали, что ацексазоламид (43,0 мг/кг, $1/20 DL_{50}$) при внутрижелудочном введении достоверно уменьшает выраженность данной реакции. Было выявлено, что у всех сенсibilизированных овальбумином подопытных мышей, на 21-й день латентного периода сенсibilизации при внутрикожном введении антигена развивалась местная аллергическая реакция, которую визуальнo оценивали по площади окрашенного участка кожи. У подопытных животных, получавших ацексазоламид площадь окрашенного участка кожи была в среднем в 1,57 раза меньше, чем в контроле (рисунок 10).

По выраженности противоаллергической активности ацексазоламид уступал преднизолону (0,5 мг/кг) в среднем в 2,24 раза ($p < 0,05$). В сериях опытов с введением преднизолона площадь опытного пятна была в среднем в 5,3 раза ($p < 0,05$) меньше, чем площадь контрольного окрашенного участка кожи (таблица 1).

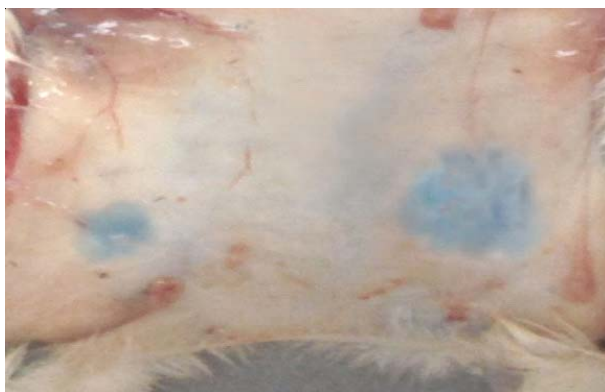


Рисунок 10 – Реакция активной кожной анафилаксии у мышей при введении ацексазоламида в дозе 43,0 мг/кг: слева – опытное пятно, справа – контрольное пятно

Таблица 1 – Влияние ацексазоламида и преднизолона на выраженность активной кожной анафилаксии у мышей

| Серия опыта | Площадь окрашенного участка кожи, мм ² | | Угнетение рАКА, % |
|---|---|------------|-------------------|
| | Контроль | Опыт | |
| Ацексазоламид, 43,0 мг/кг | 314,8±8,6 | 200,2±8,0* | 36,4 |
| Преднизолон, 0,5 мг/кг | 286,9±8,0 | 53,9±1,7* | 81,6 |
| Примечание: * – различие с контролем достоверны ($p < 0,05$). | | | |

Учитывая тот факт, что в химической структуре нового аминокислотного производного тиadiaзола присутствует фрагмент ацексамовой кислоты, обладающей выраженными репаративными свойствами, следующим этапом исследования явилась оценка противоожоговой активности ацексазоламида.

Результаты исследования показали, что ежедневное внутривентрикулярное введение крысам ацексазоламида (21,5 мг/кг, 1/20 DL₅₀) достоверно ($p < 0,05$) сокращало сроки полной эпителизации ожогового дефекта. Так, было выявлено, что полная эпителизация ожогового дефекта с образованием рубца у крыс опытной группы происходила в среднем на 13,3 суток ($p < 0,05$), что в 1,3 раза ($p < 0,05$) быстрее, чем у крыс, получавших внутрь изотонический раствор натрия хлорида. В ходе планиметрического исследования было установлено, что, начиная в среднем с 4-х суток ($p < 0,05$), площадь поверхности ожогового дефекта у крыс опытной группы была достоверно меньше, чем в контроле (рисунок 11).

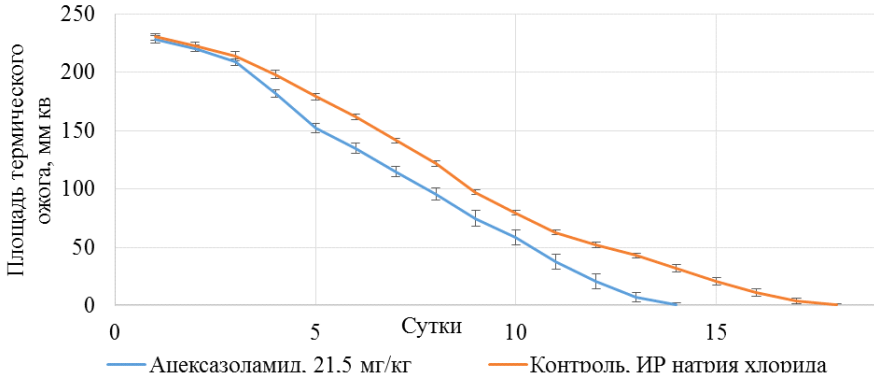


Рисунок 11 – Изменения площади раневого дефекта у подопытных крыс под влиянием ацикловира (21,5 мг/кг)

Проведенные гистологические исследования позволили установить, что ежедневное внутривенное применение ацикловира способствовало активации процессов регенерации и созревания молодой соединительной ткани, а также росту эпителия по поверхности дефекта. Так, на 10-е сутки наблюдения у животных группы контроля сохранялся небольшой лейкоцитарно-некротический слой. Струп толщиной $206,0 \pm 5,8$ мкм был частично фрагментирован и плотно спаян с подлежащими тканями. Лейкоцитарный вал располагался в виде тонкой полосы толщиной $76,2 \pm 2,5$ мкм, в его составе отмечали наличие фагоцитирующих макрофагов и нейтрофильных лейкоцитов нормальной структуры. Грануляционная ткань типичного строения широким пластом ($832,7 \pm 11,3$ мкм) полностью заполняла ожоговый дефект.

В верхней части сохранялся слой вертикально расположенных кровеносных сосудов. Преобладающее место в грануляциях начал занимать слой фибробластов с различной ориентацией вокруг сосудов, между которыми были заметны многочисленные коллагеновые волокна. Был отмечен процесс преобразования грануляционной ткани в молодую соединительную. Большая часть раневой поверхности была покрыта новообразованным эпителием, состоящим из 5 – 6 слоев клеток. Протяженность регенерата составила $650,5 \pm 50,1$ мкм. Базальная мембрана эпителиального регенерата была ровная, и лишь в краевых участках она образовывала выросты в подлежащую ткань. Толщина эпителия на границе дефекта составила $141,8 \pm 3,6$ мкм.

На 10-е сутки эксперимента у животных, получавших ацикловир наблюдали усиление наметившихся различий с контролем (рисунок 12).

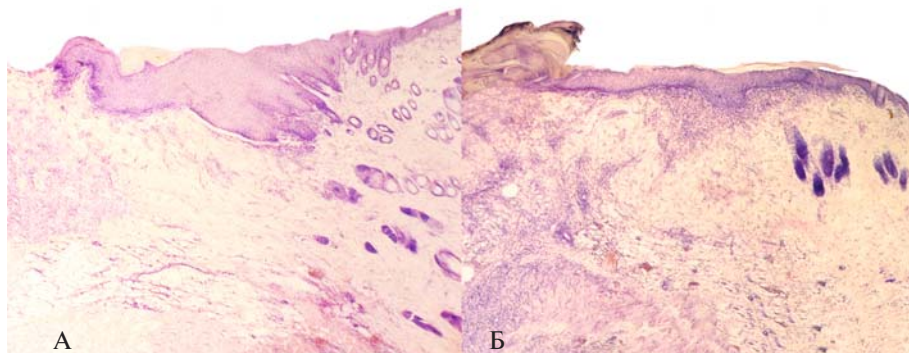


Рисунок 12 – Гистологическая картина раневого дефекта у крыс опытной группы (А) и контрольной группы (Б), 10-е сутки. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400х

Эпителиальный регенерат имел значительную протяженность и составил $992,5 \pm 8,1$ мкм, что в среднем 1,5 раза ($p < 0,05$) больше, чем в контроле (таблица 2).

Таблица 2 – Морфологические изменения при термическом ожоге у крыс на 10-е сутки после травмы

| Серия опыта | Толщина, мкм | | | | Длина регенерата, мкм. |
|--|------------------|-------------------|----------------------|---------------------------|------------------------|
| | Струп | Лейкоцитарный вал | Грануляционная ткань | Пограничная зона эпителия | |
| Ацесазоламид, 21,5 мг/кг | $81,3 \pm 4,0^*$ | $16,6 \pm 4,5^*$ | $1309 \pm 19,7^*$ | $232,5 \pm 10,0^*$ | $992,5 \pm 8,1^*$ |
| Изотонический раствор натрия хлорида | $206,0 \pm 5,8$ | $76,2 \pm 2,5$ | $832,7 \pm 11,3$ | $141,8 \pm 3,6$ | $650,5 \pm 50,1$ |
| Примечание: * - различия с контролем достоверны ($p < 0,05$) | | | | | |

В строении регенерирующего эпителия была выявлена вертикальная дифференциация с образованием производных кожи. На границе дефекта эпителий имел толщину $232,5 \pm 10,0$ мкм, что в среднем 1,6 раза ($p < 0,05$) больше, чем в контроле. Струп в среднем в 2,5 раза ($p < 0,05$) был тоньше по сравнению с контролем и сохранялся только в центре дефекта в виде отдельных фрагментов. Под ним наблюдали наличие лейкоцитарного вала высотой $16,7 \pm 4,5$ мкм, что в среднем в 4,6 раза ($p < 0,05$) меньше, чем в контроле. В небольших участках раны, не покрытых эпителием, отмечали не полную дифференцировку грануляционной ткани, у поверхности которой был расположен небольшой слой вертикально ориентированных кровеносных сосудов. Наблюдали, заполнение основной части дефекта слоем горизонтально расположенных фибробластов, между кото-

рыми было отмечено наличие многочисленных коллагеновых волокон, собранных в пучки. Выявили значительную толщину грануляционной ткани ($1309,8 \pm 19,7$ мкм против $832,7 \pm 11,3$ мкм в контроле). По краям раневого дефекта отмечено формирование молодой соединительной ткани

На 15-е сутки эксперимента у подопытных крыс, получавших ацексазоламид выявлено наличие в области повреждения рубца типичного строения (рисунки 13).

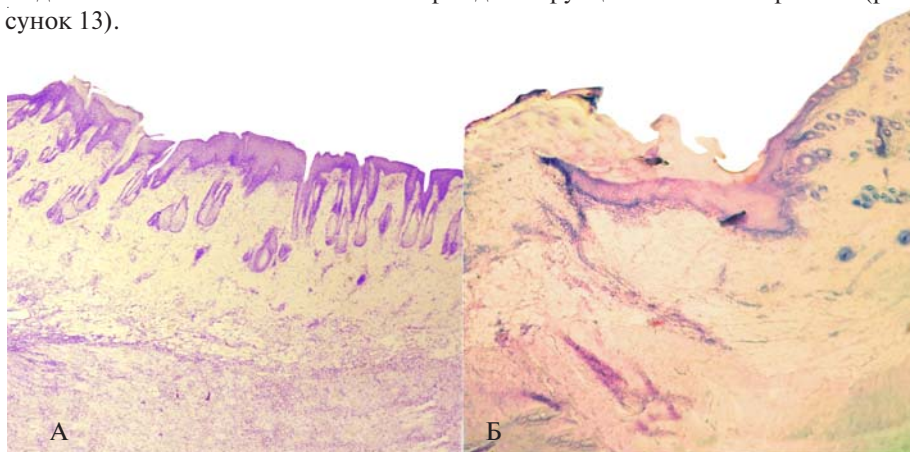


Рисунок 13 – Гистологическая картина раневого дефекта у крыс опытной группы (А) и контрольной группы (Б), 15-е сутки. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 400х

Регенерат имел вид тонкой ленты с дифференцировкой на слои. Дефект был заполнен зрелой соединительной тканью с горизонтально ориентированными фибробластами и многочисленными коллагеновыми волокнами. На протяжении всего образованного эпителия базальная мембрана образовывала многочисленные выросты в подлежащую ткань с признаками формирования волосяных фолликулов и сальных желез. У большинства животных опытной группы в области повреждения был сформирован органоспецифический регенерат, имеющий все признаки нормальной кожи.

Таким, образом, результаты эксперимента показали, что ежедневное внутриведение ацексазоламида в дозе 21,5 мг/кг существенно ускоряет эпителизацию дефектов при термическом ожоге III Б степени у крыс.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итоги выполненного исследования

В результате проведенного исследования было выявлено, что ацексазоламид проявляет свойства нестероидного противовоспалительного средства и является малотоксичным веществом с низкой ульцерогенной активностью. Установлено,

что противовоспалительная активность ацексазоламида в дозе $1/20 DL_{50}$ при формалин-индуцированном отеке лапы и хронической пролиферативной воспалительной реакции (фетровой гранулеме) у крыс была выше, чем у кетопрофена в эквитоксической дозе. На моделях механического раздражения воспаленной лапы у крыс, химического болевого раздражения брюшины у крыс, термического раздражения лапы у мышей было показано наличие у ацексазоламида анальгетической активности. Отмечено, что по выраженности анальгетического эффекта ацексазоламид соответствовал (в тестах химического болевого раздражения брюшины и механического раздражения лапы у крыс) действию кетопрофена или был несколько слабее кетопрофена (в тесте горячей пластины у мышей). На модели дрожжевой лихорадки у крыс было продемонстрировано наличие у ацексазоламида жаропонижающей активности. На модели активной кожной анафилаксии у мышей показана способность нового аминокислотного производного тиадиазола уменьшать выраженность данной реакции. При термических ожогах кожи у крыс ацексазоламид, являясь по химической структуре тиадиазолиламидом ацексамовой кислоты, оказывал выраженное ранозаживляющее действие. Это проявлялось в сокращении сроков эпителизации поврежденных участков, ускоренном образовании структурных элементов кожи, уменьшением выраженности воспалительной реакции в зоне повреждения.

Практические рекомендации

Результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать ацексазоламид для дальнейших расширенных доклинических исследований с целью получения нового эффективного и безопасного нестероидного противовоспалительного средства.

Рекомендуется использовать результаты данного исследования в учебном процессе в медицинских вузах и научно-исследовательской работе при поиске новых нестероидных противовоспалительных средств.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Планируется улучшение биофармацевтических и технологических свойств активной фармацевтической субстанции ацексазоламида с целью разработки лекарственных препаратов с оптимальным составом и в виде лекарственной формы, обеспечивающей его высокую биодоступность.

ВЫВОДЫ

1. Среднесмертельная доза DL_{50} ацексазоламида при внутрижелудочном введении мышам и крысам составила соответственно 861,0 (95% ДИ, 754,9 – 967,1) и 429,8 (95% ДИ, 309,6 – 550,0) мг/кг, что в соответствии с ГОСТом 12.1.007-76 позволяет отнести его к веществам 3-го класса опасности и к умеренно токсичным веществам по классификации Ходжа и Стернера.

2. Ульцерогенность ацексазоламида при однократном внутрижелудочном введении крысам в дозе $1/5 DL_{50}$ (86,1 мг/кг) была в 14 раз ($p < 0,05$) ниже, чем у индометацина в эквитоксической дозе. При субхроническом введении значение индекса ульцерогенности Паулса для ацексазоламида в дозе $1/20 DL_{50}$ (21,5 мг/кг) составило 0,19, что было в 61,9 раза ($p < 0,01$) меньше, чем у индометацина в эквитоксической дозе.
3. На моделях острого экссудативного и хронического пролиферативного воспаления у крыс было выявлено наличие у ацексазоламида выраженной противовоспалительной активности. При формалин индуцированном отеке значение ED_{50} при внутрижелудочном введении составило 13,8 (95% ДИ: 8,2 – 19,4) мг/кг. Противовоспалительная активность ацексазоламида в дозе 21,5 мг/кг ($1/20 DL_{50}$) при остром экссудативном воспалении была в среднем в 1,25 раз ($p < 0,05$) выше, чем у кетопрофена в эквитоксической дозе. При хронической воспалительной реакции (фетровая гранулема) ацексазоламид в дозе 21,5 мг/кг ($1/20 DL_{50}$) в среднем в 1,28 раз ($p < 0,05$) сильнее угнетал пролиферативную фазу по сравнению с кетопрофеном в эквитоксической дозе.
4. На моделях механического раздражения воспаленной лапы у крыс, химического болевого раздражения брюшины у крыс, термического раздражения лапы у мышей было выявлено наличие у ацексазоламида выраженной анальгетической активности при внутрижелудочном введении. При механическом раздражении воспаленной лапы у крыс значение ED_{50} составило 14,0 (95% ДИ: 8,3 – 19,6) мг/кг. Значение ED_{50} для обезболивающей активности при корчах, вызванных уксусной кислотой, составило 25,0 (95% ДИ: 15,3 – 34,7) мг/кг. При термическом раздражении лапы у мышей значение ED_{50} составило 25,6 (95% ДИ: 15,1 – 36,0) мг/кг. На моделях механического раздражения воспаленной лапы и химического болевого раздражения брюшины у крыс обезболивающая активность ацексазоламида в дозе $1/20 DL_{50}$ (21,5 мг/кг) достоверно не отличалась от кетопрофена в эквитоксической дозе.
5. Жаропонижающая активность ацексазоламида в дозе $1/20 DL_{50}$ (21,5 мг/кг) при дрожжевой лихорадке у крыс была в среднем в 1,2 раза ($p < 0,05$) меньше, чем у кетопрофена в эквитоксической дозе. При этом значение ED_{50} составило 31,9 (95% ДИ: 19,2 – 44,5) мг/кг.
6. При внутрижелудочном введении мышам в дозе $1/20 DL_{50}$ (43,0 мг/кг) ацексазоламид уменьшал выраженность реакции активной кожной анафилаксии в 1,57 раз ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.
7. Ежедневное внутрижелудочное введение ацексазоламида в дозе $1/20 DL_{50}$ (21,5 мг/кг) сокращало сроки заживления термического ожога III Б степени у крыс в среднем в 1,3 раза ($p < 0,05$). Гистологическая структура регенерата у подопытных животных, получавших ацексазоламид, на 15 сутки исследования была приближена к строению нормальной кожи.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Казаишвили, Ю.Г. Изучение фармакологической активности новых производных тиadiaзола / Ю.Г. Казаишвили, М.А. Демидова, Н.С. Попов // Материалы I Российской конференции по медицинской химии с международным участием «MedChem Russia-2013», г. Москва, 8-12 сентября 2013 г. – Москва, 2013. – С. 220.
2. Казаишвили, Ю.Г. Изучение фармакологической активности новых производных тиadiaзола / Ю.Г. Казаишвили, М.А. Демидова, Н.С. Попов // Материалы международной научно-практической конференции «Теория и практика современной науки», г. Москва, 8-9 октября 2013 г. – Москва, 2013. – С. 217-222.
3. **Казаишвили, Ю.Г. Исследование противовоспалительной активности новых производных тиadiaзола при формалиновом отеке лапы у крыс / Ю.Г. Казаишвили, Н.С. Попов // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 3; URL: www.science-education.ru/109-9598.**
4. Казаишвили, Ю.Г. Исследование жаропонижающей активности новых производных тиadiaзола / Ю.Г. Казаишвили, Н.С. Попов // Материалы международной научно-практической конференции «Наука, образование, общество: проблемы и перспективы развития», г. Тамбов, 28 февраля 2014 г. – Тамбов, 2014. – Т. 3. – С. 54-56.
5. Попов, Н.С. Оценка острой токсичности нового аминокислотного производного тиadiaзола при внутрижелудочном введении мышам / Н.С. Попов, М.А. Демидова // Верхневолжский медицинский журнал. – 2016. – Т. 15, № 1. – С. 9-12.
6. **Попов, Н.С. Оценка ulcerогенности нового аминокислотного производного тиadiaзола при внутрижелудочном введении крысам / Н.С. Попов, М.А. Демидова // Врач-аспирант. – 2017. – Т. 80, № 1. – С. 71-77.**
7. Попов, Н.С. Экспериментальная оценка противовоспалительной активности нового аминокислотного производного тиadiaзола / Н.С. Попов, А.С. Малыгин // Врач-аспирант. – 2017. – Т. 85, № 6.4. – С. 476-483.
8. Попов, Н.С. Экспериментальная оценка анальгетической активности нового аминокислотного производного 1,3,4-тиadiaзолиламида / Н.С. Попов, А.С. Малыгин, М.А. Демидова // Врач-аспирант. – 2017. – Т. 85, № 6.4. – С. 483-490.
9. Попов, Н.С. Оценка жаропонижающей активности нового аминокислотного производного 1,3,4-тиadiaзолиламида в эксперименте на крысах / Н.С. Попов // Врач-аспирант. – 2017. – Т. 85, № 6.5. – С. 554-559.
10. Попов, Н.С. Разработка ВЭЖХ-МС/МС-метода для идентификации и количественного определения нового производного тиadiaзола / Н.С. Попов, А.С. Малыгин, М.А. Демидова // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 5; URL: www.science-education.ru/ru/article/view?id=26988.
11. Демидова, М.А. Применение ВЭЖХ-масс-спектрометрии для разделения и идентификации новых противовоспалительных средств из группы тиadiaзолиламидов

- / М.А. Демидова, Н.С. Попов, А.С. Малыгин // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2018. – Т. 21, № 4. – С. 12-17.
12. Оценка биодоступности этилтиадиазолиламида ацетиламиногексановой кислоты при внутривенном введении кроликам / А.С. Малыгин, Н.С. Попов, М.А. Демидова, С.Б. Марасанов // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2018. – № 1. – С. 56-63.
 13. Popov, N. Assessment of pharmacological activity and bioavailability of the new derivative 1,3,4-thiadiazole / N.S. Popov, M.A. Demidova, A.S. Malygin // Research Results in Pharmacology. – 2018. – Vol. 4(2). – P. 27-46.
 14. Характеристика масс-спектров производных 1,3,4-тиадиазола с противовоспалительной активностью: база данных № 2018620073 Российская Федерация / М.А. Демидова, С.Я. Скачилова, Н.С. Попов, А.С. Малыгин, заявитель ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России – 2017621368 ; заявл. 24.11.2017 ; опубл. 12.01.2018, Бюл. N 1. 1 с.
 15. Экспериментальные сведения о фармакологической активности новых нестероидных противовоспалительных средств из группы производных 1,3,4-тиадиазола: база данных № 2018620072 Российская Федерация / М.А. Демидова, С.Я. Скачилова, Н.С. Попов, А.С. Малыгин, заявитель ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России – 2017621367 ; заявл. 24.11.2017 ; опубл. 12.01.2018, Бюл. N 1. 1 с.
 16. Характеристика условий хроматографического определения нестероидных противовоспалительных средств из группы производных 1,3,4-тиадиазола в плазме крови: база данных № 2018620120 Российская Федерация / М.А. Демидова, С.Я. Скачилова, Н.С. Попов, А.С. Малыгин, заявитель ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России – 2017621365 ; заявл. 24.11.2017 ; опубл. 18.01.2018, Бюл. N 1. 1 с.
 17. Производные 5-этил-2-амино-1,3,4-тиадиазола, обладающие обезболивающей, противовоспалительной, противоаллергической и анальгетической активностями: пат. № 2651572 Российская Федерация / С.Я. Скачилова, Н.К. Желтухин, М.А. Демидова, Н.С. Попов, Ю.Г. Казаишвили, А.В. Коротконожкин, О.В. Проскурина, М.В. Ольхович, Г.Л. Перлович, заявитель и патентообладатель - ОАО ВНИЦ БАВ - 2016132343 ; заявл. 05.08.2016 ; опубл. 23.04.2018, Бюл. № 12. 2 с.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

НПВП – нестероидный противовоспалительный препарат
 ИП – индекс Паулса
 ИР NaCl – изотонический раствор натрия хлорида
 pAKA – реакция активной кожной анафилаксии
 ДИ – доверительный интервал

Научное издание

ПОПОВ Никита Сергеевич

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ
НОВОГО АМИНОКИСЛОТНОГО ПРОИЗВОДНОГО
ТИАДИАЗОЛА**

14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать 26.03.2019 г. Формат 60×84 1/16.
Усл. печ. л. 1,0. Гарнитура NewtonС.
Тираж 100 экз. Заказ 10.

Тиражирование методом ризографирования в типографии
редакционно-издательского центра
Тверского государственного медицинского университета.
170100, г. Тверь, ул. Советская, д. 4.
тел. (4822)32-12-03
E-mail: rpc.tver@mail.ru