УДК 615.243 DOI: 10.15372/SSMJ20180201

# ПРОТИВОЯЗВЕННАЯ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ТИАЗОЛИДИНОНА НА ОСНОВЕ КАМФОЛЕНОВОГО АЛЬДЕГИДА

Марина Сергеевна БОРИСОВА, Дмитрий Николаевич СОКОЛОВ, Наталья Анатольевна ЖУКОВА, Татьяна Генриховна ТОЛСТИКОВА, Нариман Фаридович САЛАХУТДИНОВ

Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова РАН 630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 9

Цель исследования – изучить противоязвенную и противовоспалительную активность 3-[3-(морфолин-4-ил) пропил]-2-[(2,2,3-триметилциклопент-3-ен-1-ил)метил]-1,3-тиазолидин-4-она. Материал и методы. В исследовании использовали 24 самца белых аутбредных мышей и 102 самки крыс Wistar. Противоязвенную активность соединения при профилактическом введении в сравнении с омепразолом и фамотидином изучали на модели индуцированной этанолом язвы с использованием 24 самок крыс. Для оценки антиульцерогенного действия проводили измерение площади повреждений, вызванных введением 96%-го этанола. Лечебный эффект соединения исследовали на 78 самках крыс на модели хронической язвы желудка, индуцированной уксусной кислотой, после 5, 10, 15 и 25 суток введения исследуемого вещества и препарата сравнения омепразола. Влияние на регенераторный процесс определяли при измерении диаметра язвенных дефектов, а также при гистологическом исследовании образцов ткани желудка с подсчетом количества лейкоцитов в области язвы. Противовоспалительную активность соединения оценивали на мышах на модели воспалительного отека, индуцированного гистамином, в сравнении с диклофенаком. Результаты и их обсуждение. Установлено, что исследуемое соединение обладает выраженной противоязвенной активностью на модели этаноловой язвы желудка, сравнимой с активностью омепразола, тогда как фамотидин не проявляет гастропротекторных свойств. Показано, что на модели ацетатной язвы введение агента не вызывает достоверного сокращения размера язв по сравнению с контролем, при этом введение омепразола приводит к существенному уменьшению дефектов на 15-е и 25-е сутки эксперимента. Существенных различий между экспериментальными группами в морфологической картине ацетатной язвы не наблюдалось, однако в ходе морфометрического исследования выявлено достоверное уменьшение количества лейкоцитов в слизистой оболочке желудка на периферии язвы при введении исследуемого соединения. На модели гистаминового отека продемонстрирован выраженный противовоспалительный эффект вещества, сравнимый с активностью диклофенака.

**Ключевые слова:** тиазолидинон, противоязвенная активность, противовоспалительная активность, этаноловая язва, ацетатная язва, гистаминовый отек.

Язвенная болезнь желудка представляет собой распространенное хроническое заболевание, имеющее различную этиологию: инфекционную, лекарственную, токсическую, и поражающее людей наиболее активного возраста. Язвенная болезнь желудка приводит к временной или стойкой утрате трудоспособности и снижению качества жизни, а также имеет ряд опасных для жизни осложнений, таких как кровотечения, прободение и онкологические заболевания. Терапевтические схемы, используемые для лечения данной патологии, включают большой арсенал лекарственных препаратов разных фармакологических групп, а именно: антисекреторные и антацидные средства, гастропротекторы и антибиотики. Для всех этих средств, особенно при длительном их применении, характерны побочные эффекты, связанные с нарушением моторной и пищеварительной функции желудочно-кишечного тракта, ночными кислотными прорывами и т.д. Таким образом, по-

**Борисова М.С.** – аспирант, младший научный сотрудник, e-mail: ya.marina.biryukova@mail.ru

Соколов Д.Н. – к.х.н., научный сотрудник, e-mail: dsokolov@nioch.nsc.ru

**Жукова Н.А.** – д.м.н., старший научный сотрудник, e-mail: gna2004@ngs.ru

**Толстикова Т.Г.** – д.б.н., проф., зав. лабораторией, e-mail:  $tg\_tolstikova@mail.ru$ 

 $extbf{Caлaxymduho6}$   $extbf{H.\Phi.}$  —  $ext{d.x.н.}$ , зав. отделением, e-mail: anvar@nioch.nsc.ru

**Рис. 1.** Соединение 1 - 3-[3-(Морфолин-4-ил)пропил]-2-[(2,2,3-триметилциклопент-3-ен-1-ил) метил]-1,3-тиазолидин-4-он

иск и разработка новых эффективных противоязвенных агентов остаются актуальной задачей для исследователей.

Особый интерес представляют соединения природного происхождения (флавоноиды, терпеноиды, сапонины и др.), которые, как правило, обладают широким спектром биологической активности и низкой токсичностью [8, 10]. Перспективной платформой для синтеза новых лекарственных агентов является бициклический монотерпен α-пинен, в изобилии выделяемый из живицы хвойных деревьев [3]. На основе производного α-пинена – камфоленового альдегида – в лаборатории физиологически активных соединений Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН путем одностадийного синтеза получено соединение 1 - 3-[3-(морфолин-4-ил)пропил]-2-[(2,2,3-триметилциклопент-3-ен-1-ил)метил]-1,3тиазолидин-4-он (рис. 1) [4]. Данное вещество принадлежит к группе гетероциклических соединений, содержащих тиазолидиноновое ядро, которые активно исследуются в настоящее время в связи с разнообразием фармакологических свойств. В литературе описаны многочисленные соединения с тиазолидиноновым остовом, обладающие антимикробной, противораковой, антидиабетической, противовоспалительной и другими видами фармакологической активности [9].

Соединение 1 было выбрано для углубленного исследования в результате скрининга противоязвенной активности на модели индуцированной индометацином язвы желудка [4]. В ходе эксперимента для данного агента, введенного в дозе 100 мг/кг, продемонстрировано выраженное противоязвенное действие с показателем активности 5,2 единицы по методу Паулса [11], тогда как аналогичный показатель для препарата сравнения омепразола в аналогичной дозе составил 3,8 единицы.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на 24 самцах белых беспородных мышей массой 25–30 г и 102 самках крыс Wistar массой 180–200 г, полученных из лаборатории разведения экспериментальных жи-

вотных ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), содержавшихся в стандартных условиях на обычном пищевом и водном рационе. Все манипуляции с животными проводили согласно положениям Хельсинкской декларации 2000 г.

Этаноловую язву моделировали на 24 самках крыс Wistar способом, описанным в литературе [6]. Животные были рандомизированы по массе и распределены на группы по 6 особей. Исследуемое соединение вводили крысам натощак внутрижелудочно в дозе 100 мг/кг в 0,05%-м растворе твина 80. Препаратами сравнения служили омепразол («Акрихин», Россия) в дозе 100 мг/кг и фамотидин («Хемофарм», Россия) в дозе 20 мг/кг. Животным контрольной группы вводили воднотвиновую смесь per os. Через час животным перорально вводили 96%-й этиловый спирт (5 мл/кг). Через час после введения этанола животных подвергали эвтаназии под эфирным наркозом. Желудки извлекали, вскрывали по большой кривизне, расправляли на плоскости и фотографировали с использованием фотоаппарата Canon Powershot G9. Площадь эрозивно-язвенных повреждений определяли с помощью программного обеспечения AxioVision 4.9.1 («Carl Zeiss», Германия).

Ацетатную язву желудка воспроизводили по методу К. Такаги и др. [12] с использованием 78 крыс Wistar. Животных рандомизировали по массе и распределили на 4 группы. Крысы группы интактного контроля (6 особей) получали 0,05%-й раствор твина в дистиллированной воде в течение 25 суток. Крысам группы негативного контроля, опытной группы и группы сравнения (по 24 особи) моделировали ацетатную язву: после депривации пищи в течение суток под эфирным наркозом индуцировали повреждение желудка путем введения 0,05 мл 30%-й уксусной кислоты непосредственно под серозную оболочку органа. Через сутки после операции животных разделили на подгруппы по 6 особей и начали ежедневное пероральное введение веществ в течение 5, 10, 15 и 25 дней. Животным опытной группы вводили исследуемое соединение в дозе 100 мг/кг в водно-твиновой смеси. В качестве препарата сравнения вводили омепразол в дозе 100 мг/кг. Животные группы негативного контроля получали водно-твиновую смесь. По завершении срока введения животных выводили из эксперимента путем избыточной наркотизации диэтиловым эфиром. Желудки извлекали, вскрывали по малой кривизне, диаметр язвенного дефекта измеряли с помощью линейки.

Желудки фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина в течение 5 суток, затем

вырезали из органов образцы толщиной 5–7 мм и подвергали стандартной обработке на гистологическом комплексе MICROM («Carl Zeiss», Германия). Гистологические срезы окрашивали гематоксилином Лилли — Майера и 1%-м эозином, а также ШИК и алциановым синим по методу Моури [2]. Препараты исследовали методом световой микроскопии в проходящем свете с использованием микроскопа Axiostar, оснащенного камерой AxioCam MRc («Carl Zeiss», Германия). Микрофотографии выполнены с использованием программного обеспечения AxioVision 4.9.1. Подсчет количества лейкоцитов на периферии язвенного дефекта осуществляли при увеличении ×1000 в 10 полях зрения.

Исследование противовоспалительной активности соединений проводили на белых аутбредных мышах на модели воспалительного отека, индуцированного гистамином [5]. Животные были разделены на группы по 8 особей. Исследуемое соединение вводили мышам натощак внутрижелудочно в дозе 100 мг/кг. Животные группы сравнения перорально получали лекарственный препарат диклофенак в дозе 10 мг/кг («Хемофарм», Россия). Через час моделировали воспалительный отек путем введения под апоневроз задней лапы 0,05 мл 0,01%-го раствора гистамина дигидрохлорида («ICN Biomedicals», США). Через пять часов после введения флогогена оценивали разницу масс воспаленной и интактной задних лап животных и рассчитывали процент воспалительного отека (ВО) по следующей формуле:

$$BO = \frac{M_B - M_K}{M_K} \times 100 \%$$
, где  $M_B$  – масса воспален-

ной лапы,  $M_{\rm K}$  — масса интактной (контрольной) лапы. Противовоспалительную активность представили как процент уменьшения отека по сравнению с контролем.

При проведении статистической обработки количественных данных определяли средние значения показателей, стандартную ошибку среднего, достоверность различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ**

Результаты исследования противоязвенной активности на модели этаноловой язвы показали, что введение исследуемого соединения 1 в дозе 100 мг/кг за час до 96%-го этанола приводит к сокращению площади повреждений слизистой оболочки желудка на 68,3 % (4,21  $\pm$  0,83 мм² по сравнению с 13,30  $\pm$  3,11 мм² в контрольной группе, p < 0,05). Препарат сравнения омепразол в дозе 100 мг/кг также способствовал

достоверному уменьшению площади на 87,7% (до  $1,64\pm0,55$  мм²), причем статистически значимого отличия от опытной группы не наблюдалось. Фамотидин в дозе 20 мг/кг не проявил гастропротекторного эффекта в условиях токсического воздействия этанола (площадь повреждений составила  $18,96\pm8,65$  мм²).

В ходе исследования лечебного эффекта агента 1 на модели ацетатной язвы желудка гибели животных не зарегистрировано. Уменьшение массы тела крыс во всех экспериментальных группах отмечали лишь в первые два дня после операции, после чего наблюдали стабильный рост. Других признаков токсичности вводимых веществ, таких как пилоэрекция, изменение консистенции стула или двигательной активности, не зафиксировано.

По результатам измерения диаметра язвенных дефектов, индуцированных уксусной кислотой, существенных различий в динамике изменения размера язв между опытной группой животных, получавших исследуемое вещество, и группой негативного контроля не выявлено, тогда как в группе сравнения на 15-е и 25-е сутки эксперимента наблюдалось достоверное уменьшение диаметра язв по сравнению с негативным контролем (таблица).

При гистологическом исследовании образцов ткани желудка во всех группах наблюдалась характерная для хронической язвы морфологическая картина. В дне язв различали четыре слоя. Поверхностный слой представлен бесструктурными отторгающимися массами клеточного детрита. Глубже расположен глыбчатый слой фибриноидного некроза, содержащий клетки в состоянии некробиоза, патологически измененный экстрацеллюлярный матрикс и функционирующие макрофаги. Под этим слоем выявлялись слои грануляционной ткани и рубца, в которых определялись перпендикулярные поверхности язвы коллагеновые тяжи и формирующиеся кровеносные сосуды.

На всех сроках эксперимента наблюдалась эпителизация дефекта, выражавшаяся в наползании уплощенных эпителиоцитов по поверхности фибриноида (рис. 2), однако полной эпителизации язвы не произошло ни в одной экспериментальной группе.

По периферии язвы расположен гипертрофированный желудочный эпителий с высоким содержанием муцинов, выявлявшихся при окраске по методу Моури (рис. 3). При этом во всех группах как вблизи, так и на расстоянии от дефекта в эпителии и шеечной части желез желудка определялись нейтральные муцины, окрашивающиеся в

**Таблица** Диаметр язвенного дефекта, индуцированного уксусной кислотой, и общее количество лейкоцитов в собственной пластинке слизистой оболочки желудка в его области

Время после индукции, сут	Негативный контроль	Омепразол, 100 мг/кг	1, 100 мг/кг
Диаметр язвенного дефекта, мм			
5	$10,67 \pm 1,09$	$8,33 \pm 1,15$	$12,00 \pm 1,13$
10	$6,00 \pm 0,73$	$4,83 \pm 0,87$	$5,67 \pm 0,61$
15	$5,40 \pm 0,51$	$2,33 \pm 0,56*$	$5,83 \pm 1,35$
25	$3,80 \pm 0,58$	$1,33 \pm 0,21*$	$2,00 \pm 0,00$
Количество лейкоцитов на периферии язвенного дефекта			
5	$189,67 \pm 14,11$	$238,83 \pm 14,17$	$205,33 \pm 25,36$
10	$176,80 \pm 2,01$	$213,67 \pm 15,02$	$146,50 \pm 20,38$
15	$181,00 \pm 4,07$	$243,17 \pm 28,54$	$159,17 \pm 17,24$
25	$187,40 \pm 6,30$	$207,83 \pm 8,84$	$101,67 \pm 14,87^{*,\#}$
Количество лейкоцитов в дне язвенного дефекта			
5	$273,66 \pm 15,34$	$278,80 \pm 31,16$	$233,60 \pm 31,29$
10	$245,40 \pm 8,48$	299,16 ± 5,59	$262,60 \pm 17,71$
15	$214,33 \pm 4,98$	$293,00 \pm 20,76*$	287,67 ± 19,81*
25	$215,00 \pm 4,16$	$204,67 \pm 7,63^{\circ}$	$181,67 \pm 8,09^{\circ}$

Примечание. Обозначены статистически значимые (p < 0.05) отличия от величин соответствующих показателей: \* — негативного контроля, # — на 5-е сутки эксперимента, ^ — на 15-е сутки эксперимента; общее количество лейкоцитов в собственной пластинке слизистой оболочки желудка животных группы интактного контроля составляло  $135.00 \pm 5.57$ .

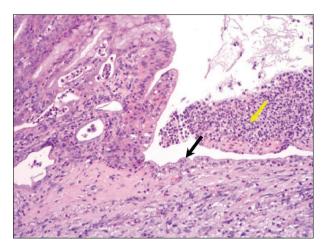


Рис. 2. Желудок животного, получавшего омепразол в дозе 100 мг/кг на фоне ацетатной язвы, 5 сут. Эпителизация язвенного дефекта (черная стрелка) на месте отторгающихся масс клеточного детрита (желтая стрелка). Окраска гематоксилином и эозином, ув. × 200

пурпурный цвет при ШИК-реакции, а в теле желудка выявлялись клетки, содержавшие кислые муцины, окрашивающиеся алциановым синим. Такое распределение мукополисахаридов наблюдалось и в группе интактного контроля. Таким образом, видимых изменений, которые могли бы быть связаны с метапластической перестройкой желудочных желез, зарегистрировано не было.

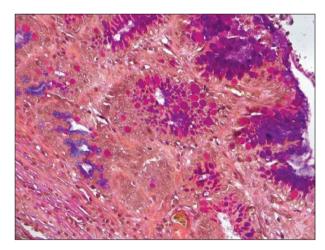


Рис. 3. Желудок животного, получавшего соединение 1 в дозе 100 мг/кг на фоне ацетатной язвы, 15 сут. Гипертрофированный регенерирующий эпителий на периферии язвенного дефекта. Нейтральные муцины окрашены краснопурпурным, кислые — синим. Окраска по Моури, ув. × 200

Для оценки воспалительного процесса был проведен подсчет количества лейкоцитов на периферии и в дне язвы (в области грануляционной ткани и рубца). Морфометрическое исследование показало, что на периферии язвы общее количество лейкоцитов в группе негативного контроля и группе сравнения поддерживалось на одном уровне на всех сроках исследования. В то же вре-

мя в опытной группе определялось постепенное уменьшение количества лейкоцитов, и к 25 суткам эксперимента наблюдалось достоверное отличие по этому показателю от группы негативного контроля, а также от группы животных, которым вводили соединение 1 в течение 5 сут (см. таблицу). Иная динамика воспалительного процесса отмечалась при подсчете лейкоцитов в области дна язвы. В группах животных, которым вводили соединение 1 и омепразол в дозе 100 мг/кг, на 15-е сутки эксперимента наблюдалось достоверное увеличение общего количества лейкоцитов по сравнению с негативным контролем. В группе негативного контроля количество лейкоцитов в дне язвы на разных сроках эксперимента значительно не различалось. Достоверных различий между опытной группой и группой сравнения выявлено не было.

При изучении противовоспалительного действия соединения 1 на модели гистаминового отека выявлено, что введение исследуемого вещества в дозе 100 мг/кг, как и введение диклофенака в дозе 10 мг/кг, способствовало достоверному уменьшению воспалительного отека по сравнению с группой контроля. Процент воспалительного отека в опытной группе составлял  $20,74 \pm 2,83$  %, в группе сравнения —  $22,00 \pm 1,60$  %, в контроле —  $29,46 \pm 3,64$  %. Таким образом, соединение 1 в дозе 100 мг/кг обладает выраженной противовоспалительной активностью.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка противоязвенной активности новых перспективных агентов требует исследования на многих экспериментальных моделях, предполагающих различные механизмы воздействия на слизистую оболочку желудка. В данном исследовании соединение 1 проявило гастропротекторную активность в условиях токсического воздействия 96%-го этанола. Этиловый спирт, являясь одновременно гидрофильной и липофильной молекулой, обладает свойством растворять защитный слой муцинов, вырабатываемый железистыми клетками желудка. Кроме того, введение концентрированного этилового спирта нарушает осмотический баланс в ткани слизистой оболочки желудка и индуцирует мощный окислительный стресс [6]. Следовательно, вещества, проявляющие гастропротекторную активность в условиях данной экспериментальной модели, могут способствовать сдерживанию агрессивных факторов, воздействующих на слизистую оболочку желудка, увеличению устойчивости клеток, а также могут обладать антиоксидантными свойствами. Выраженное противоязвенное действие омепразола, являющегося ингибитором протонной помпы, по всей видимости, обусловлено снижением кислотности содержимого желудка. Для выяснения механизма антиульцерогенного действия соединения 1 требуются дополнительные исследования.

Следует отметить, что фамотидин в дозе 20 мг/кг не проявил защитного действия в условиях этаноловой модели, что согласуется с данными литературы [7]. По механизму действия фамотидин является Н<sub>2</sub>-антагонистом 3-го поколения, широко использующимся в терапии заболеваний желудочно-кишечного тракта. Этот препарат блокирует специфичные для ткани желудка рецепторы гистамина, расположенные в том числе на мембранах клеток кровеносных сосудов. Гистамин как естественный активатор секреции кислоты стимулирует локальное кровообращение. На фоне воздействия 96%-го этанола блокирование гистаминовых рецепторов желудка отменяет сосудистый эффект гистамина и создает условия для ишемии, что приводит к снижению устойчивости слизистой оболочки к ульцерогенному агенту. На основании этих данных можно заключить, что механизм противоязвенной активности соединения 1 не связан с регуляцией секреции кислоты путем блокирования Н<sub>2</sub>-рецепторов.

Для изучения лечебного действия соединения 1 в отношении уже сформированного язвенного дефекта проведено исследование на модели язвы желудка, индуцированной уксусной кислотой. Результаты эксперимента показали, что введение исследуемого вещества в дозе 100 мг/кг не приводит к существенному ускорению заживления хронической язвы по сравнению с негативным контролем. Достоверное уменьшение диаметра язвенного дефекта по сравнению с контрольной группой наблюдалось лишь в группе сравнения на 15-е и 25-е сутки эксперимента в результате ежедневного введения омепразола в дозе 100 мг/кг.

Исследование гистологических препаратов желудка методом световой микроскопии также не выявило очевидных преимуществ исследуемого соединения перед препаратом сравнения в терапии сформировавшегося глубокого язвенного дефекта. Ежедневное введение животным соединения 1 и омепразола в дозе 100 мг/кг не способствовало полной эпителизации язвы в сроки, установленные в эксперименте. Предположительно, при увеличении продолжительности опыта этот процесс должен был завершиться раньше у животных, получавших омепразол, в

связи с тем, что в группе сравнения наблюдалось достоверное уменьшение размера язв по сравнению с негативным контролем.

Эпителизация эрозий и язв желудка является ключевым этапом в регенерации, поскольку железистый эпителий представляет собой единственно эффективный защитный слой для регенерирующей подлежащей ткани. Скорость эпителизации определяется как интенсивностью агрессивного воздействия содержимого просвета желудка, так и состоянием слоя фибриноидного набухания и некроза в дне язвы. Фибриноид, с одной стороны, предохраняет подлежащую ткань от дальнейшего разрушения пищеварительным соком и прочими повреждающими агентами из просвета желудка. Также без него невозможно образование грануляционной ткани и рубца. С другой стороны, этот слой замедляет эпителизацию вследствие того, что не создает необходимого микроокружения для устойчивого распространения нарастающего эпителиального пласта [1]. Следовательно, очищение дна язвы от клеточного детрита, а также сложная цепь событий, приводящая к организации некротического слоя и образованию рубцовой ткани, имеют большое значение в регенераторном процессе. Все эти события невозможны без участия лейкоцитов.

Очевидно, что слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта, постоянно контактирующая с агрессивной средой пищеварительных соков, аллергенами и микроорганизмами, находится в сложных взаимоотношениях с клетками иммунной системы. В случае повреждения слизистой оболочки желудка лейкоциты, с одной стороны, локализуют очаг повреждения и элиминируют патогенную микрофлору и клеточный детрит в ходе воспалительной реакции. С другой стороны, воспалительная инфильтрация может способствовать повреждению окружающих тканей за счет окислительного стресса, вызываемого продукцией активных форм кислорода, нарушению трофики и нормального микроокружения клеточных элементов. Кроме того, молекулярные сигналы лейкоцитов оказывают значительное влияние на регенерацию и рубцевание эрозивноязвенных дефектов, что отражается на качестве заживления, а следовательно, влияет на вероятность рецидива заболевания и качество жизни пациентов. Так, например, показано, что введение TGF-β, который вырабатывается, в том числе, макрофагами, ускоряет заживление пептической язвы, однако приводит к формированию грубого рубца, тогда как антитело к TGF-β препятствует избыточному рубцеванию, вследствие чего качество заживления повышается [1].

В проведенном нами эксперименте наблюдаются интересные изменения общего количества лейкоцитов на периферии и в области дна язвы. В ходе морфометрического исследования было показано, что при ежедневном введении соединения 1 и омепразола в дозе 100 мг/кг количество лейкоцитов в грануляционной ткани и рубце по сравнению с негативным контролем существенно увеличивалось к 15 суткам эксперимента, после чего достоверно уменьшалось до контрольной величины. При этом в группе животных, получавших соединение 1, к 25-м суткам выявлялось достоверное снижение общего числа лейкоцитов на периферии язвы по сравнению с контролем и уровнем на 5-е сутки, тогда как в группе сравнения оно оставалось постоянным на всем протяжении эксперимента. Таким образом, можно предположить, что механизм действия агента 1 связан с регуляцией воспалительного процесса в слизистой оболочке желудка. Проведенный нами опыт по оценке активности исследуемого соединения на модели гистаминового отека подтверждает наличие у данного вещества в используемой дозе противовоспалительной активности, сравнимой с действием диклофенака в дозе 10 мг/кг. Следует отметить, что диклофенак как нестероидный противовоспалительный препарат обладает ульцерогенным действием, а исследуемое соединение, напротив, проявляет гастропротекторные свойства.

Можно предположить, что воспалительная реакция в слизистой оболочке желудка на периферии язвенного дефекта стимулирует эпителизацию, тогда как лейкоцитарная инфильтрация дна язвы служит для выполнения иных задач регенераторного процесса. По-видимому, снижение кислотности содержимого желудка, вызываемое омепразолом, является фактором, способствующим привлечению лейкоцитов в область дна язвы, но степень инфильтрации собственной пластинки слизистой оболочки при этом остается постоянной, что и приводит к более быстрому сокращению дефекта. Соединение 1, возможно, также посредством некоторого механизма усиливает инфильтрацию дна язвы, но при этом снижает темп регенерации за счет подавления воспалительного процесса в собственной пластинке слизистой оболочки желудка. Таким образом, возможно, противовоспалительный эффект, по крайней мере отчасти, обусловливает гастропротекторную активность исследуемого соединения 1 в условиях экспериментальных моделей язвы желудка, индуцированной индометацином и этанолом. Однако применение этого вещества при сформировавшейся язве, вероятно, является нецелесообразным.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Исследуемое соединение — 3-[3-(морфолин-4-ил)пропил]-2-[(2,2,3-триметилциклопент-3-ен-1-ил)метил]-1,3-тиазолидин-4-он — в дозе 100 мг/кг обладает выраженной гастропротекторной активностью на модели этаноловой язвы, сравнимой с активностью ингибитора протонной помпы омепразола, введенного в такой же дозе. При этом фамотидин не проявил антиульцерогенного действия в условиях данной экспериментальной модели. Таким образом, можно утверждать, что механизм противоязвенной активности соединения 1 не подразумевает блокирования Н,-рецепторов гистамина подобно фамотидину.

Ежедневное введение соединения **1** в дозе 100 мг/кг в течение 5, 10, 15 и 25 суток на модели ацетатной язвы не вызывает достоверного сокращения диаметра язвенного дефекта по сравнению с негативным контролем, тогда как введение омепразола в той же дозе приводит к существенному уменьшению размера язвы на 15-е и 25-е сутки опыта.

В ходе исследования гистологических срезов желудка значительных различий морфологической картины между группами негативного контроля, сравнения и опыта выявлено не было: ни в одной группе не наблюдалось полной эпителизации язвенного дефекта, признаков метапластической перестройки. При подсчете общего количества лейкоцитов на периферии и в области дна язвы установлено, что при введении исследуемого агента и омепразола на 15-е сутки эксперимента в грануляционной ткани и рубце оно увеличено по сравнению с контролем. В группе животных, получавших соединение 1, к 25-м суткам наблюдалось достоверное уменьшение общего количества лейкоцитов в собственной пластинке слизистой оболочки на периферии язвы.

Для агента 1 в дозе 100 мг/кг выявлена выраженная противовоспалительная активность на модели гистаминового отека, сравнимая с активностью диклофенака.

Таким образом, можно предположить, что гастропротекторное действие 3-[3-(морфолин-4-ил) пропил]-2-[(2,2,3-триметилциклопент-3-ен-1-ил) метил]-1,3-тиазолидин-4-она по крайней мере частично обусловлено его противовоспалительным эффектом. Однако в условиях сформировавшейся язвы противовоспалительное действие, вероятно, является нецелесообразным, и признаков стимуляции регенерации дефекта не наблюдается.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. *Аруин Л.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А.* Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. М.: Триада-Х, 1998. 496 с.
- 2. *Лилли Р*. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М.: Мир, 1969. 646 с.
- 3. *Рудаков Г.А.* Химия и технология камфары. М.: Лесн. пром-сть, 1976. 203 с.
- 4. Соколов Д.Н., Борисова М.С., Жукова Н.А., Толстикова Т.Г., Салахутдинов Н.Ф. 3-[3-(Морфолин-4-ил)пропил]-2-[(2,2,3-триметилциклопент-3-ен1-ил)метил]-1,3-тиазолидин-4-он, обладающий противоязвенной и противовоспалительной активностью. Патент № 2643669; Опубл. 05.02.2018.
- 5. Тринус Ф.П., Мохорт Н.А., Клебанов Б.М. Методы скрининга и фармакологического изучения противовоспалительных, анальгезирующих и жаропонижающих веществ (методические рекомендации). Киев, 1974. 28 с.
- 6. Adinortey M.B., Ansah C., Galyuon I., Nyarko A. In vivo models used for evaluation of potential antigastroduodenal ulcer agents // Ulcers. 2013. 2013. ID 796405.
- 7. Dembiński A., Warzecha Z., Ceranowicz P., Brzozowski T., Dembiński M., Konturek S.J., Pawlik W.W. Role of capsaicin-sensitive nerves and histamine H1, H2, and H3 receptors in the gastroprotective effect of histamine against stress ulcer in rats // Eur. J. Pharmacol. 2005. 508. 211–221.
- 8. *Maity B., Chattopadhyay S.* Natural Antiulcerogenic Agents: An Overview // Curr. Bioact. Compd. 2008. 4. (4). 225–244.
- 9. Manjal S.K., Kaur R., Bhatia R., Kumar K., Singh V., Shankar R., Kaur R., Rawal R.K. Synthetic and medicinal perspective of thiazolidinones: A review // Bioorg. Chem. 2017. 75. 406–423.
- 10. *Newman D.J., Cragg G.M.* Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014 // J. Nat. Prod. 2016. 79. (3). 629–661.
- 11. *Pauls F., Wick A.N., MacKay E.M.* An assay method for anti-ulcer substances // Gastroenterology. 1947. 8. (6). 774–782.
- 12. *Takagi K., Okabe S., Saziki R.* A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and effects of several drugs on its healing // Jpn. J. Pharmacol. 1969. 19. 418–426.

## ANTIULCER AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF THE CAMPHOLENIC ALDEHYDE-DERIVED THIAZOLIDINONE

Marina Sergeevna BORISOVA, Dmitriy Nikolaevich SOKOLOV, Natalya Anatolevna ZHUKOVA, Tatyana Genrikhovna TOLSTIKOVA, Nariman Faridovich SALAKHUTDINOV

N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry of SB RAS 630090. Novosibirsk. Academik Lavrentiev av. 9

The research objective was the study of antiulcer and anti-inflammatory activity of the 3-[3-(morpholine-4-yl)propyl]-2-[(2,2,3-trimethylcyclopent-3-en-1-yl)methyl]-1,3-thiazolydin-4-one. Material and methods. The study was performed on 24 male outbred mice and 102 female Wistar rats. The investigation of antiulcer activity of the substance as a preventive medication in comparison with omeprazole and famotidine was carried out on 24 rats using the 96 % ethanol-induced gastric ulcer test. The ethanol-induced lesion area was measured to evaluate the antiulcerogenic activity. The curative effect of the compound was studied on 78 female rats using the chronic acetic acid-induced model on the 5th, 10th, 15th, and 25th day of administration, omeprazole being used as a reference drug. A diameter of the ulcers was measured and a histological investigation of the gastric tissue samples including leukocyte counting was performed to estimate the influence on the regeneration process. Anti-inflammatory activity of the substance in comparison with diclofenac was studied on mice using histamine-induced edema model. Results and discussion. The substance of interest was shown to possess antiulcerogenic action comparable to the activity of omeprazole on ethanol-induced ulcer whereas famotidine did not exhibit gastroprotective properties. The administration of the agent did not lead to a significant decrease of acetic acid-induced ulcer size, whereas omeprazole promoted the marked reduction of the lesion area on the 15th and 25th day of the experiment. There were no significant morphological differences observed between the experimental groups. Notably, the administration of the substance under investigation resulted in significant decreasing of leukocyte quantity in the ulcer margins. The marked anti-inflammatory action of the substance similar to the effect of diclofenac was demonstrated on the histamine-induced edema model.

**Key words:** thiazolydinone, antiulcerative activity, anti-inflammatory activity, ethanol-induced ulcer, acetic acid-induced ulcer, histamine-indiced edema.

Borisova M.S. – postgraduate student, junior researcher, e-mail: ya.marina.biryukova@mail.ru Sokolov D.N. – candidate of chemical sciences, researcher, e-mail: dsokolov@nioch.nsc.ru Zhukova N.A. – doctor of medical sciences, senior researcher, e-mail: gna2004@ngs.ru Tolstikova T.G. – doctor of biological sciences, professor, head of laboratory, e-mail: tg\_tolstikova@mail.ru Salakhutdinov N.F. – doctor of chemical sciences, head of department, e-mail: anvar@nioch.nsc.ru