

Ministry of Education and Science of the Russian Federation
V. I. Vernadsky Crimean Federal University
Министерство образования и науки Российской Федерации
ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»



Etidronic acid adduct and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)butane: properties and effect on pain sensitivity

Аддукт этидроновой кислоты и бис (2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)бутан: свойства и влияние на болевую чувствительность

I.V. Cheretaev, M.Yu. Ravaeva, E.N. Chuyan
И.В. Черетаев, М.Ю. Раваева, Е.Н. Чуюн

The study was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation in the framework of the scientific project No 18-13-00024.

Simferopol, 2020

Relevance of the work

Актуальность работы

According to statistics, 9 out of 10 diseases are accompanied by pain, and a fifth of the world's population experiences unpleasant sensations connected with the chronic pain. Carrying out a primary screening on laboratory animals of promising substances with the purpose of searching for new analgesics is an important task of biomedical science.

The huge potential of synthetic possibilities for modifying the 1,2,4-triazole molecule opens up great prospects for the synthesis and research of the biological activity of its new derivatives with bisphosphonates to obtain effective and safe analgesics of a new generation. One of these derivatives is an **adduct of etidronic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl-3)butane (EA+BTB)**.

The aim of the work is **to evaluate the effect of EA+BTB on the pain sensitivity of male and female rats in doses of 5 and 50 mg/kg with a single injection.**

По статистике 9 из 10 заболеваний сопровождается болью, а пятая часть населения планеты испытывает неприятные ощущения, связанные с хронической болью. Проведение первичного скрининга на лабораторных животных перспективных веществ с целью поиска новых анальгетиков является актуальной задачей биомедицины.

Огромный потенциал синтетических возможностей модифицирования молекулы 1,2,4-триазолов открывает большие перспективы для синтеза и исследования биологической активности новых его производных с бисфосфонатами для получения эффективных и безопасных анальгетиков нового поколения. Одним из таких производных является аддукт этидроновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил-3)бутана (ЭК+БТБ).

Цель работы – **оценить влияние ЭК+БТБ на болевую чувствительность самцов и самок крыс в дозах 5 и 50 мг/кг при однократном введении.**

Material and methods

30 male and 30 female adult Wistar rats weighing 200-220 gr

“FSUE Nursery of laboratory animals “Rappolovo”, Saint-Petersburg, Russia

Two experimental groups of males and two experimental groups of females (n=10 in each group of animals) received intraperitoneal injections of 0.2 ml EA+BTB in doses of 5 and 50 mg/kg respectively. The males (n=10) and the females (n=10) of control groups of animals received single intraperitoneal injections of 0.2 ml 0.9% NaCl solution.

The pain sensitivity of animals was evaluated after 1 hour of single intraperitoneal injection of the studied solutions of substances.

The reliability of statistical differences between the control and experimental groups was determined by using a one-way analysis of variance (ANOVA) with a posteriori Tukey test and Dunn’s test of multiple comparisons.



Tail-flick test

Тест «отдёргивание хвоста»



Hot plate test

Тест «горячая пластина»

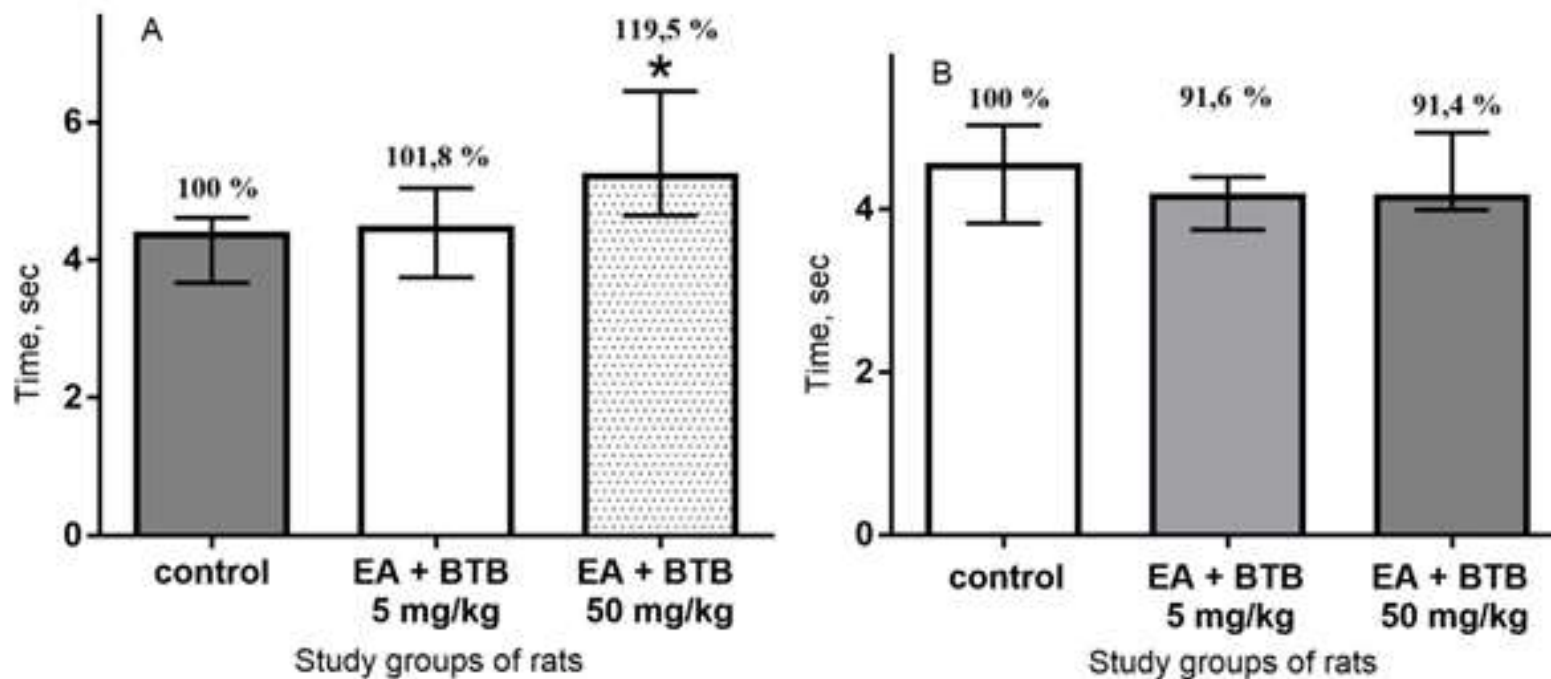


Randall-Selitto test

Тест Рэндалла-Селитто

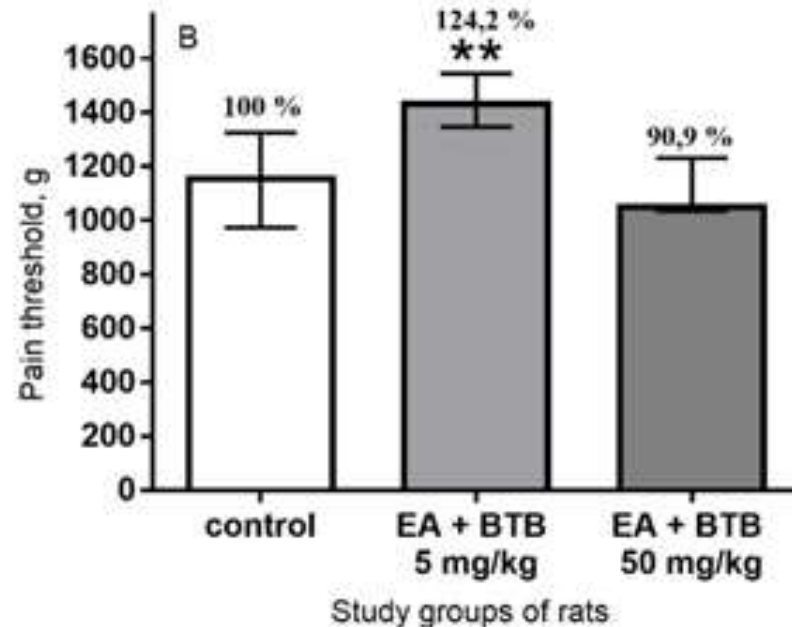
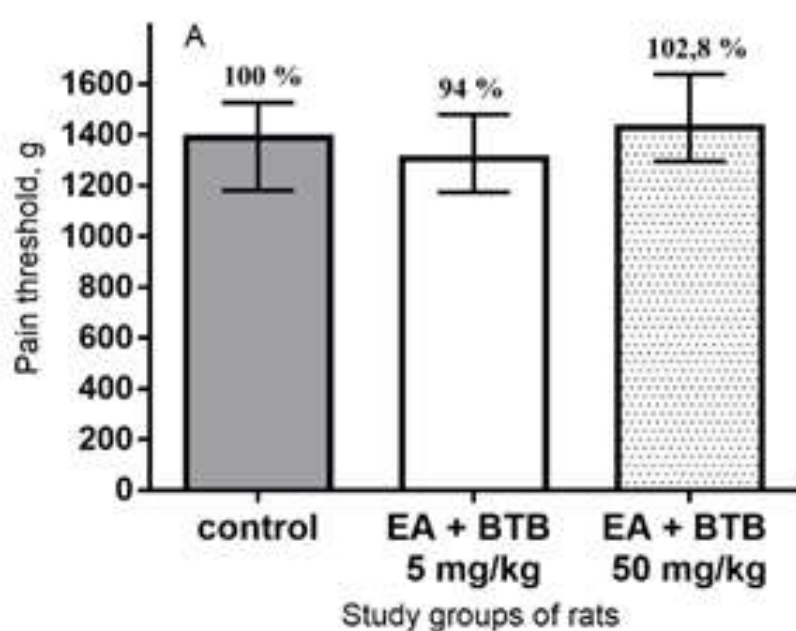
Latent period of tail retraction in rats (median, interquartile range from 25 to 75 %) in the "tail-flick" test in the control group and after intraperitoneal injection of adduct of ethidronic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl)butane (EA+BTB) in doses of 5 and 50 mg/kg: (A) males, (B) females.

Латентный период отдёргивания хвоста у крыс (медиана, межквартильный диапазон от 25 до 75 %) в тесте «tail-flick» в контрольной группе и после внутрибрюшинного введения аддукта этидроновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил)бутана (ЭК + БТБ) в дозах 5 и 50 мг/кг: (A) самцы, (B) самки.



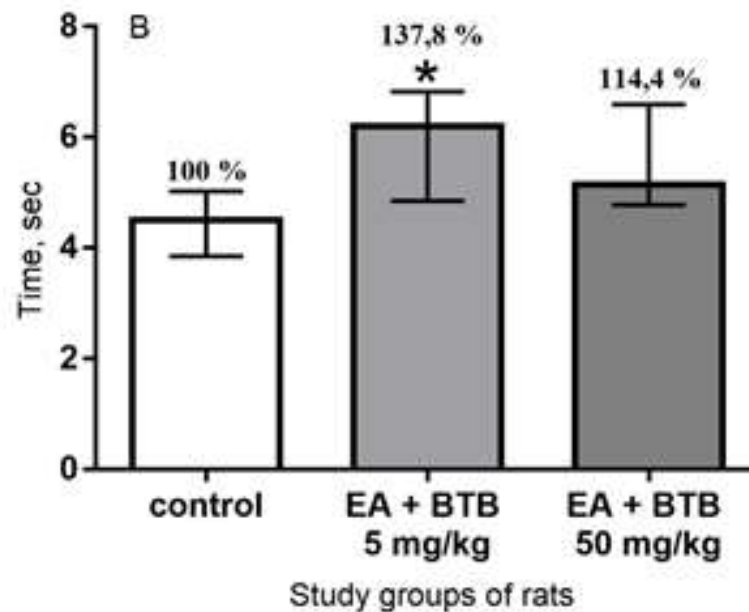
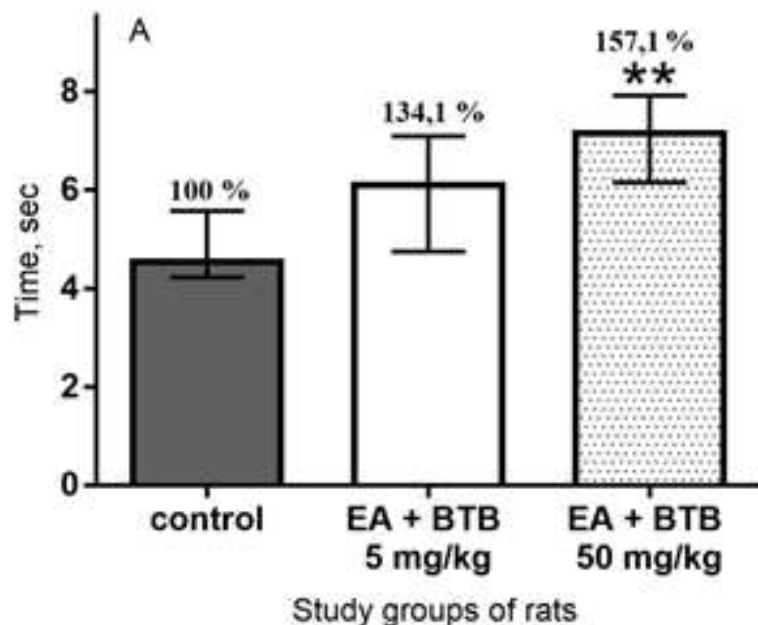
Pain threshold in rats (median, interquartile range from 25 to 75 %) in the Randall-Selitto test in the control group and after intraperitoneal injection of adduct of ethidronic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl)butane (EA+BTB) in doses of 5 and 50 mg/kg: (A) males, (B) females.

Болевой порог у крыс (медиана, межквартильный диапазон от 25 до 75 %) в тесте Рэндалла-Селитто в контрольной группе и после внутрибрюшинного введения аддукта этидроновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазолил)бутана (ЭК + БТБ) в дозах 5 и 50 мг/кг: (А) самцы, (В) самки.



Latent period of pain reaction in rats (median, interquartile range from 25 to 75 %) in the “hot plate” test in the control group and after intraperitoneal injection of adduct of ethidronic acid and bis(2-pyridyl-1,2,4-triazolyl)butane (EA+BTB) in doses of 5 and 50 mg/kg: (A) males, (B) females.

Латентный период болевой реакции у крыс (медиана, межквартильный диапазон от 25 до 75 %) в тесте «hot plate» в контрольной группе и после внутрибрюшинного введения аддукта этидроновой кислоты и бис(2-пиридил-1,2,4-триазилил)бутана (ЭК + БТБ) в дозах 5 и 50 мг/кг: (А) самцы, (В) самки.



CONCLUSION

It was found that EA+BTB when injected once in different doses significantly changes the pain sensitivity of male and female rats in acute pain tests, showing gender specificity of the analgesic effect with the participation of various pain mechanisms and nociception components.

In the “tail-flick” test, EA+BTB in a dose of 50 mg/kg has an analgesic effect, significantly increasing LPTR in male rats. This confirms the participation of the perceptual component of nociception and the spinal mechanism of pain sensitivity regulation in the implementation of the analgesic properties of EA+BTB in a dose of 50 mg/kg in male rats. In females, the analgesic properties of EA+BTB (5 and 50 mg/kg) were not detected.

In the Randall-Sellitto test, reflecting the participation of the mechanical component of nociception in the analgesic effect of substances, in female rats EA+BTB in a dose of 5 mg/kg shows analgesic activity, and in males the effect of this substance is not detected.

In the “hot plate” test in both male and female rats, EA+BTB has an analgesic effect, which is implemented with the participation of supraspinal mechanisms for regulating pain sensitivity. This effect is gender-specific: in males, EA+BTB increases LPPR in a dose of 50 mg/kg, and in female rats – in a dose of 5 mg/kg.

The compound EA+BTB is recommended for further in-depth preclinical tests of its analgesic activity, decoding its physiological and molecular mechanisms in order to create an improved prototype of a new generation drug based on EA+BTB.

Обнаружено, что новое комплексное соединение ЭК+БТБ при однократном введении в различных дозах существенно изменяет болевую чувствительность самцов и самок крыс в тестах острой боли, проявляя гендерную специфичность анальгетического эффекта с участием различных механизмов боли и компонентов ноцицепции.

В тесте «отдёргивание хвоста» ЭК+БТБ в дозе 50 мг/кг обладает анальгетическим эффектом, достоверно увеличивая ЛПРОХ у самцов крыс. Это служит подтверждением участия перцептуального компонента ноцицепции и спинального механизма регуляции болевой чувствительности в реализации противоболевых свойств ЭА+БТБ в дозе 50 мг/кг у самцов крыс. У самок анальгетических свойств ЭК+БТБ (5 и 50 мг/кг) не было обнаружено.

В тесте Рэндалла-Селитто, отражающем участие механического компонента ноцицепции в анальгезирующем действии веществ, у самок крыс ЭК+БТБ в дозе 5 мг/кг проявляет противоболевую активность, а у самцов эффект данного вещества не обнаруживается.

В тесте «горячая пластина» и у самцов, и у самок крыс ЭК+БТБ обладает анальгетическим эффектом, который реализуется с участием супраспинальных механизмов регуляции болевой чувствительности. Данный эффект проявляет гендерную дозоспецифичность: у самцов ЭА+БТБ увеличивает ЛПБР в дозе 50 мг/кг, а у самок крыс – в дозе 5 мг/кг.

Соединение ЭК+БТБ рекомендовано для дальнейших углубленных доклинических испытаний его анальгезирующей активности, расшифровки её физиологических и молекулярных механизмов с целью создания улучшенного прототипа лекарственного средства нового поколения на основе ЭК+БТБ.