

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 547-326+54.058

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.608-622

## СИНТЕЗ И АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОЛЕКАРСТВЕННЫХ БИФАРМАКОФОРНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НА ОСНОВЕ ПИРИДОКСИНА И КЕТОРОЛАКА

*М.В. Пугачев, Н.В. Штырлин, М.Н. Агафонова, О.С. Васильева,  
Е.М. Фафанова, Ю.Г. Штырлин*

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия*

### Аннотация

Синтезированы пролекарственные бифармакофорные противовоспалительные средства на основе пиридоксина и кеторолака. Разработана лабораторная методика получения этих соединений без привлечения колоночной хроматографии с чистотой более 98 %. По сравнению с лекарственным препаратом кеторолаком трометамином, являющимся самым эффективным неопиодным анальгетиком, оба соединения менее токсичны ( $LD_{50}$  более 2000 мг/кг) и обладают сопоставимой анальгетической активностью на модели острого термического раздражения.

**Ключевые слова:** пиридоксин, кеторолак, нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), анальгетическая активность, безопасность.

### Введение

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), такие как кеторолак, кетопрофен, ибупрофен, диклофенак, индометацин, напроксен и некоторые другие, являются одним из наиболее употребляемых в мире типов лекарственных средств. НПВП, блокируя синтез простагландинов непосредственно в месте воспаления, обладают противовоспалительным, анальгезирующим и жаропонижающим действием [1]. Однако эти препараты обладают и существенными побочными эффектами со стороны желудочно-кишечного тракта (прежде всего гастротоксичностью), выделительной, сердечно-сосудистой и кроветворной систем [2–4]. В связи с этим разработка высокоэффективных и безопасных НПВП является актуальной задачей современного здравоохранения во всем мире.

Одним из перспективных подходов в разработке безопасных противовоспалительных лекарственных средств является создание пролекарственных соединений путем защиты карбоксильной группы НПВП с последующим высвобождением в организме активных метаболитов [5]. В медицинской химии наиболее часто используют модификацию карбоксильной группы НПВП с получением сложных эфиров [6–8], амидов [9, 10], ангидридов [11], ацеталей [12] и др. [13]. Действительно, в этом случае существенно повышается безопасность НПВП, но при этом значительно снижаются противовоспалительная и анальгетическая ак-

тивность. По этой причине известные в литературе пролекарственные НПВП в клиническую практику не внедрены.

Ранее в НОЦ фармацевтики КФУ было разработано пролекарственное противовоспалительное средство KFU-01 (рис. 1), содержащее в своей структуре фрагмент пиридоксина и четыре фрагмента лекарственного средства напроксена [14–16].

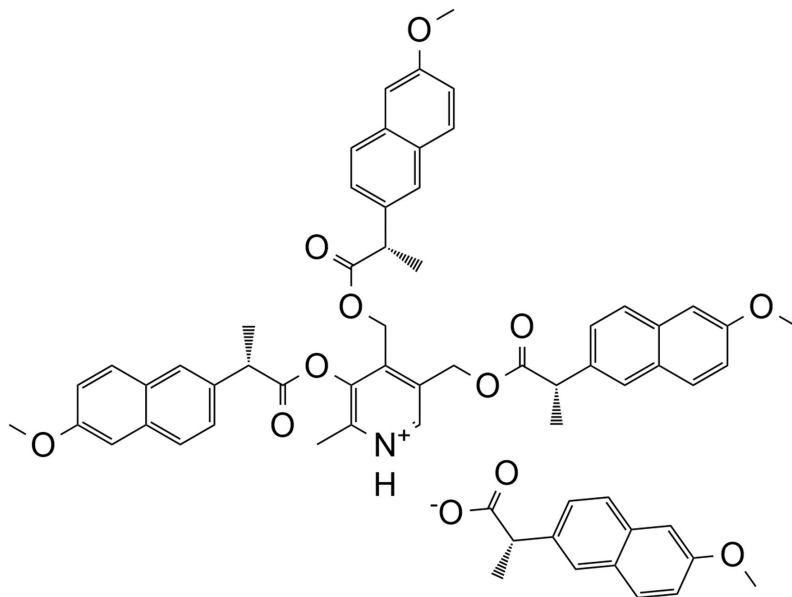


Рис. 1. Структура противовоспалительного лекарственного средства KFU-01

В результате успешно проведенных доклинических исследований в рамках ФЦП «Фарма-2020» показано, что KFU-01 при попадании в организм гидролизуетсЯ с высвобождением пиридоксина и НПВП – напроксена. Постепенно высвобождающиеся пиридоксин и напроксен оказывают синергетический фармакологический эффект и приводят к практически полному преодолению главной проблемы токсических эффектов всех НПВП– язвенности. По сравнению с высокими токсическими эффектами напроксена ( $UD_{50} = 49$  мг/кг,  $LD_{50} = 620$  мг/кг [14]), KFU-01 в опытах на крысах при пероральном введении практически полностью устраняет язвенность ( $UD_{50} > 2000$  мг/кг) и другие токсические эффекты ( $LD_{50} > 5000$  мг/кг). При этом по своей противовоспалительной активности KFU-01 превосходит лекарственный препарат напроксен. Однако анальгетическая активность KFU-01 остается весьма умеренной и значительно уступает кеторолаку – самому мощному из всех НПВП ненаркотическому анальгетику короткого действия [17].

Для кеторолака, как и для других НПВП, наблюдаются серьезные побочные эффекты, такие как эрозивно-язвенные поражения желудочно-кишечного тракта, нарушение функции почек, метаболический ацидоз и др. [18–20]. В продолжение систематических работ по синтезу и исследованию биологических свойств производных пиридоксина [15, 16] в настоящей работе синтезированы пролекарственные противовоспалительные средства на основе пиридоксина и кеторолака, а также изучены их токсичность и анальгетическая активность *in vitro* и *in vivo*.

## 1. Экспериментальная часть

**1.1. Приборы и условия проведения эксперимента.** Спектры ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  регистрировали на приборе Bruker Avance 400WB (Bruker Corporation, Германия) при рабочих частотах 400.13 и 100.62 МГц на ядрах  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  соответственно. В качестве внутреннего стандарта в спектрах  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  использовали сигналы трихлорметана ( $\delta\text{H}$  7.26 и  $\delta\text{C}$  77.16 м.д. соответственно).

Масс-спектрометрическое детектирование в высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) проводили с помощью масс-спектрометра высокого разрешения TripleTOF 5600 (AB Sciex, Сингапур) в условиях ионизации электростатическим распылением (турбоионный спрей) при энергии столкновения с молекулами азота 10 еВ. Для анализа использовали растворы веществ в метаноле.

Температуры плавления продуктов определяли на приборе Stanford Research Systems MPA-100 OptiMelt (Stanford Research Systems, США). Хроматографическую очистку полученных соединений проводили с использованием колоночной хроматографии на силикагеле Acros (60–200 меш) (Acros Organics, Бельгия). Контроль за ходом реакций и чистотой соединений проводили методом тонкослойной хроматографии на пластинах Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ (ООО «ИМИД», Россия).

Аналитическая обращенно-фазовая ВЭЖХ с УФ-детектированием реализована на колонке Atlantis T3 C18 (5 мкм, 150×4.6 мм) от Waters (США) в режиме градиентного элюирования (0 мин А:В = 55:45, 10 мин А:В = 55:45, 20 мин А:В = 10:90) при скорости потока 1.0 мл/мин. В качестве элюента А использован 1%-ный водный раствор уксусной кислоты, а элюента В – ацетонитрил. ВЭЖХ-анализ проводили при 40 °С в течение 20 мин с детектированием при длине волны 314 нм.

**1.2. Методика получения пиридоксина (1).** Триэтиламин (8.50 мл, 60.8 ммоль) добавляли к суспензии пиридоксина гидрохлорида (5.00 г, 24.3 ммоль) в дихлорметане (150 мл), после чего реакционную смесь интенсивно перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Далее осадок отфильтровывали и двукратно промывали дихлорметаном порциями по 50 мл. Полученный осадок высушивали досуха при пониженном давлении. Выход составил 3.7 г (90 %), получено белое кристаллическое вещество.

**1.3. Методика получения кеторолака (2).** Концентрированную соляную кислоту (13.0 мл, 133 ммоль) по каплям добавляли к раствору кеторолака трометамина (50.0 г, 133 ммоль) в воде (250 мл), после чего реакционную смесь интенсивно перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Выпавший осадок отфильтровывали и дважды промывали водой порциями по 250 мл.

Далее проводили пересаживание полученного продукта 2: к полученному осадку приливали 250 мл воды и интенсивно перемешивали до образования однородной суспензии, после чего по каплям добавляли 1.7 М водный раствор NaOH до pH = 8. Нерастворившийся осадок отфильтровывали, а фильтрат подкисляли концентрированной соляной кислотой до pH = 2. Выпавший осадок отфильтровывали и промывали водой (2 раза по 250 мл).

Процедуру переосаждения повторяли еще 2 раза, после чего выпавший осадок высушивали досуха при пониженном давлении. Выход составил 27.3 г (81 %), получено белое кристаллическое вещество.

**1.4. Получение 5-((5-бензоил-2,3-дигидро-1*H*-пирролизин-1-карбонил)окси)-6-метилпиридин-3,4-диил)бис(метилен)бис(5-бензоил-2,3-дигидро-1*H*-пирролизин-1-карбоксилата) (3).**

**Методика А:** *N,N'*-Дициклогексилкарбодиимид (30.1 г, 146 ммоль) в дихлорметане (100 мл) по каплям добавляли к суспензии пиридоксина гидрохлорида **1** (10.0 г, 48.6 ммоль), кеторолака **2** (37.2 г, 146 ммоль) и 4-(диметиламино)пиридина (6.0 г, 49.1 ммоль) в дихлорметане (350 мл). Далее реакционную смесь перемешивали в течение 24 ч при комнатной температуре (условия 1, табл. 1). Затем осадок отфильтровывали, а фильтрат высушивали досуха. Сухой остаток растворяли в минимальном количестве элюента и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент этилацетат-хлороформ в соотношении 1:1).

Выход составил 17.8 г (42 %), получено бежевое кристаллическое вещество, т. пл. 79–81 °С. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ, м.д.: 2.36 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.37 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.66–3.10 (м, 12H, 6CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.89–3.96 (м, 2H, 2CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.02–4.07 (м, 2H, 2CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.35–4.67 (м, 14H, 2CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> + 6CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 5.11–5.25 (м, 4H, 2CH<sub>2</sub>O), 5.30–5.39 (м, 4H, 2CH<sub>2</sub>O), 5.93–6.02 (м, 4H, 4CH<sub>2</sub><sup>пиррол</sup>), 6.21–6.22 (м, 2H, 2CH<sub>2</sub><sup>пиррол</sup>), 6.73–6.80 (м, 4H, 4CH<sub>2</sub><sup>пиррол</sup>), 6.84–6.85 (м, 2H, 2CH<sub>2</sub><sup>пиррол</sup>), 7.40–7.56 (м, 18H, 18CH<sub>2</sub><sup>ар</sup>), 7.75–7.82 (м, 12H, 12CH<sub>2</sub><sup>ар</sup>), 8.49 (с, 2H, 2CH<sub>2</sub><sup>пиррол</sup>). <sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ, м.д.: 19.84 (2CH<sub>3</sub>); 30.98, 31.06, 31.26, 42.23, 42.29, 42.52, 42.62, 47.54, 47.56, 42.64 (6CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 57.63, 62.11 (4CH<sub>2</sub>O); 103.14, 103.20, 103.62, 124.90, 124.98, 125.02, 127.40, 127.71, 128.28, 128.34, 128.96, 128.99, 129.35, 131.61, 131.76, 131.77, 135.15, 138.99, 139.01, 139.11, 139.17, 140.55, 141.39, 141.58, 144.63, 148.33, 153.40 (36C<sub>ар</sub> + 10C<sub>пир</sub> + 24C<sub>пиррол</sub>); 169.05, 170.77 (6C(O)O); 185.04, 185.09, 185.19 (6C(O)). Масс-спектр высокого разрешения: найдено [M+H]<sup>+</sup> 881.3187. C<sub>53</sub>H<sub>45</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>, рассчитано [M+H]<sup>+</sup> 881.3181.

**Методика Б:** Раствор *N,N'*-Дициклогексилкарбодиимида (3.15–3.20 экв) в дихлорметане (50 мл) по каплям добавляли к суспензии пиридоксина **1** (1 экв), кеторолака **2** (3.05–4.0 экв) и 4-(диметиламино)пиридина (0.5–1.0 экв) в дихлорметане (100 мл). После чего реакционную смесь перемешивали при условиях, указанных в табл. 1. Выпавший осадок отфильтровывали, а фильтрат промывали водой (2 раза по 150 мл). Органическую часть отделяли и высушивали досуха.

**1.5. Получение 3-((5-бензоил-2,3-дигидро-1*H*-пирролизин-1-карбонил)окси)-4,5-бис(((5-бензоил-2,3-дигидро-1*H*-пирролизин-1-карбонил)окси)метил)-2-метилпиридиний 5-бензоил-2,3-дигидро-1*H*-пирролизин-1-карбоксилата (4).** К раствору соединения **3** (7.9 г, 8.97 ммоль) в 100 мл дихлорметана добавляли кеторолак **2** (2.3 г, 8.97 ммоль) и перемешивали реакционную смесь при кипячении до полного растворения компонентов. Затем удаляли растворитель в вакууме. Выход составил 10.2 г (количественный), получено бежевое кристаллическое вещество, т. пл. 77–80 °С. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ, ppm: 2.36 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.37 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.67–3.10 (м, 16H, 8CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.89–3.96 (м, 2H, 2CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.02–4.13 (м, 4H, 4CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.35–4.67 (м, 18H, 2CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> + 8CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 5.11–5.39 (м, 8H, 4CH<sub>2</sub>O),

5.93–6.02 (м, 4Н, 4СН<sub>пиррол</sub>), 6.14–6.22 (м, 4Н, 4СН<sub>пиррол</sub>), 6.73–6.79 (м, 4Н, 4СН<sub>пиррол</sub>), 6.83–6.85 (м, 4Н, 4СН<sub>пиррол</sub>), 7.40–7.56 (м, 24Н, 24СН<sub>ар</sub>), 7.75–7.82 (м, 16Н, 16СН<sub>ар</sub>), 8.52 (с, 2Н, 2СН<sub>пир</sub>). <sup>13</sup>С ЯМР (100 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ, м.д.: 19.32 (2СН<sub>3</sub>); 30.96, 31.04, 31.12, 31.22, 42.20, 42.26, 42.49, 42.58, 47.53, 47.56, 42.63, 47.67 (8СНСН<sub>2</sub>СН<sub>2</sub>); 57.57, 62.01 (4СН<sub>2</sub>О); 103.19, 103.27, 103.41, 103.66, 125.04, 125.09, 125.17, 125.25, 127.22, 127.36, 127.69, 128.25, 128.27, 128.34, 128.96, 128.99, 129.72, 131.51, 131.63, 131.64, 131.79, 131.80, 135.74, 135.76, 138.89, 138.92, 139.01, 139.09, 139.25, 140.54, 140.55, 141.42, 141.65, 142.64, 144.77, 144.79, 147.77, 153.14 (48С<sub>ар</sub> + 10С<sub>пир</sub> + 32С<sub>пиррол</sub>); 168.95, 168.98, 170.69, 170.74 (6С(О)О); 174.74 (2С(О)О<sup>-</sup>); 185.12, 185.16, 185.26 (8С(О)). Масс-спектр высокого разрешения: найдено [М–С<sub>15</sub>Н<sub>12</sub>NO<sub>3</sub>]<sup>+</sup> 881.3187. C<sub>53</sub>H<sub>45</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>, рассчитано [М–С<sub>15</sub>Н<sub>12</sub>NO<sub>3</sub>]<sup>+</sup> 881.3181.

**1.6. Оценка цитотоксичности с помощью МТТ-теста.** Клетки культивировали в атмосфере 5%-ного СО<sub>2</sub> при 37 °С в среде α-МЕМ, содержащей феноловый красный, L-глутамин (2 мМ), 10%-ную эмбриональную телячью сыворотку и антибиотик (пенициллин-стрептомицин 100 мкг/мл) до образования монослоя. Для получения клеточной суспензии монослой клеток трипсинизировали и рассеивали в лунки 96-луночного планшета: 4000 клеток в 200 микролитрах культуральной среды. Планшеты с клетками инкубировали в атмосфере 5%-ного СО<sub>2</sub> при 37 °С в течение 24 ч для адгезии клеток к субстрату. Затем добавляли исследуемые соединения, варьируя концентрацию в диапазоне 4–500 мкМ. Через 72 ч к клеткам добавляли раствор красителя 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ), конечная концентрация которого составляла 0.5 мг/мл. Через 2 ч удаляли жидкость, добавляли диметилсульфоксид и измеряли поглощение на планшетном ридере Infinite 200 Pro (Tecan, Швейцария) при 555 нм (референс 700 нм). Строили графики зависимости ингибирования, выраженного в процентах по отношению к контролю, от логарифма концентрации исследуемого соединения и определяли концентрацию полумаксимального ингибирования роста клеток с помощью программного обеспечения OriginPro (OriginLab Corp., США) и Prism 6 (GraphPad Software Inc., США). Исследование проводили трижды в одинаковых условиях.

**1.7. Условия содержания животных.** Исследование проведено на крысах линии Wistar обоих полов (питомник лабораторных животных ООО «Кролинфо»). Вес особей на момент начала эксперимента составлял не менее 180–220 г. Животных содержали в поликарбонатных клетках, снабженных решетчатой крышкой из нержавеющей стали с углублением для корма, съемным разделителем, поликарбонатной поилкой с крышкой-ниппелем из нержавеющей стали и держателем для этикетки. Крыс кормили комбикормом для содержания лабораторных животных (ООО «Зилубаг», Россия). Животные имели свободный доступ к воде и корму. В качестве подстила использовали подстилочный материал для лабораторных животных – обеспыленный кукурузный подстил (ВетКормТорг, Россия). Клетки с крысами содержали в отдельных комнатах, где поддерживали 12-часовой цикл освещения с автоматическим включением и выключением. Параметры микроклимата были следующими: температура 19–25 °С, относительная влажность 30–70 %. Время адаптации животных перед началом эксперимента составляло не менее 10 дней.

**1.8. Исследование острой токсичности *in vivo*** проводили в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [21]. Были сформированы группы животных, состоящие из 10 особей (5 самцов и 5 самок), которым проводили однократное внутрижелудочное введение исследуемых соединений в объеме не более 5 мл на 250 г массы тела крысы с применением желудочного зонда. Исследуемые вещества суспензировали в 1%-ном растворе крахмала и вводили животным, лишенным корма на промежуток времени не менее 8 ч, но со свободным доступом к воде. Объем введения рассчитывали индивидуально для каждого животного, основываясь на массе его тела, зарегистрированной непосредственно перед введением вещества. Доступ животных к воде и корму возобновляли через 1 ч после введения соединений. Период индивидуального наблюдения за каждым животным составлял 14 дней. В ходе эксперимента проводили оценку общего состояния (интегральные показатели) и клинический осмотр. После окончания эксперимента животных подвергали эвтаназии методом ингаляции углекислым газом и проводили макроскопический анализ.

**1.9. Исследование анальгетической активности в тесте «Горячая пластина»** согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [21]. Для проведения теста сформировали группы животных, состоящие из 10 самцов и 10 самок. Исследуемые соединения и препарат сравнения вводили животным однократно внутрижелудочно. По прошествии 1 и 2 ч животных помещали на нагретую до 52 °С металлическую поверхность, окруженную цилиндром (Hot Plate, Ugo Basile), и фиксировали латентное время болевой реакции до первого облизывания крысой задней лапы либо до прыжка. Критерием анальгетического эффекта считали достоверное увеличение латентного периода реакции после введения вещества.

Статистическую обработку результатов проводили на языке программирования R v.3.6.3 в программе RStudio v.1.1.463 (Posit Software, США). Нормальность распределения данных оценивали с помощью теста Шапиро–Уилка. Для выявления статистически достоверных различий показателей между исследуемыми группами сравнения использовали непараметрический тест Краскела–Уоллиса с поправкой на множественное сравнение по методу Бенджамини–Хохберга (при сравнении более двух групп применяли тест Данна). В качестве критического уровня значимости принимали  $p < 0.05$ .

## 2. Результаты и их обсуждение

Синтез трис-производного **3** и соли на его основе **4** осуществляли в одну и две стадии соответственно. Трис-производное **3** первоначально получали этерификацией по Стеглиху из фармацевтической субстанции пиридоксина гидрохлорида **1** и известного НПВП – кеторолака **2**, выделенного из фармацевтической субстанции кеторолака трометамин. Реакцию проводили в дихлорметане при комнатной температуре в течение суток с использованием дициклогексилкарбодиимида (DCC) в качестве реагента сочетания и 4-диметиламинопиридина (DMAP) в качестве катализатора. Однако реакция протекала с сильным осмолением реакционной смеси и выделение продукта потребовало дополнительной



очистки путем многократного использования колоночной хроматографии. При этом выход продукта составил всего лишь 42 %. Тетракис-производное **4** получали взаимодействием трис-производного **3** с эквимольным количеством кеторолака **2** с количественным выходом (схема 1).

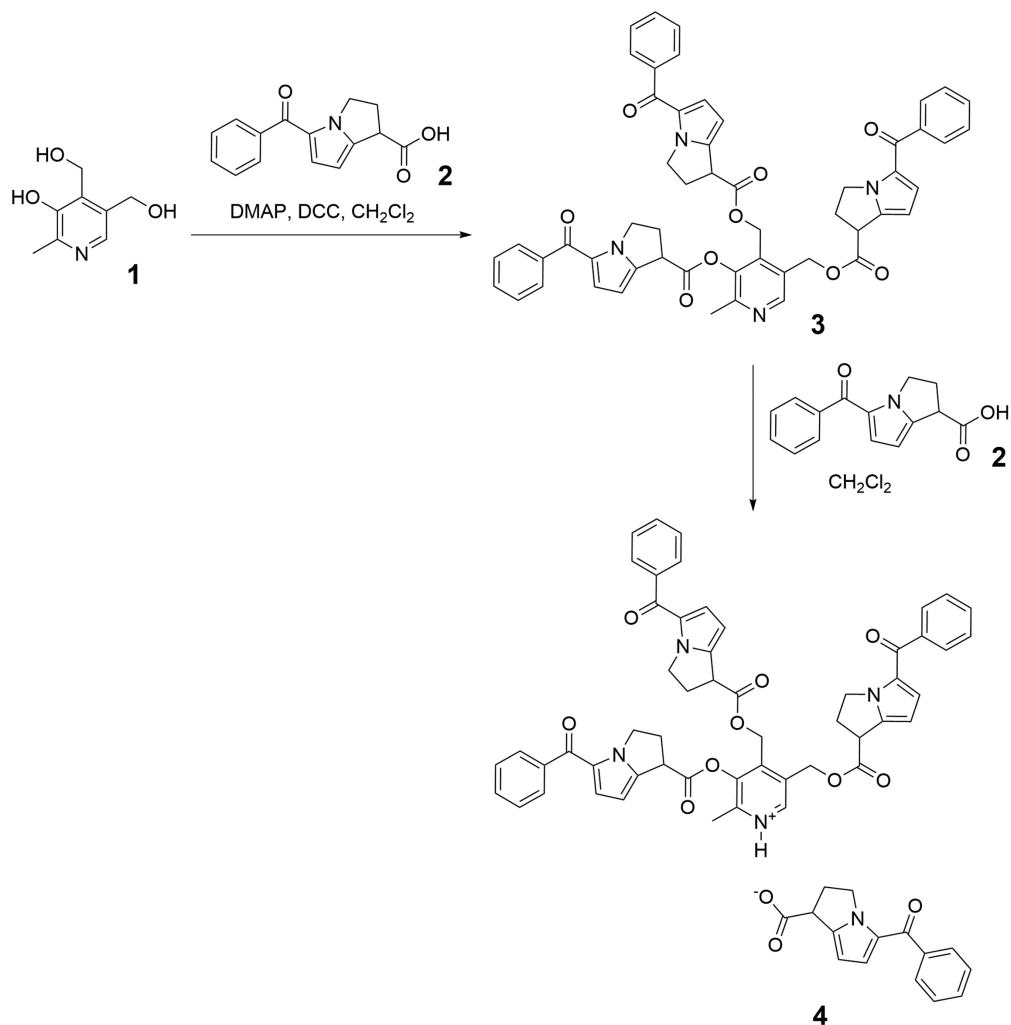


Схема 1. Синтез бифармакофорных противовоспалительных соединений на основе пиридоксина и кеторолака (DCC – дициклогексилкарбодиимид, DMAP – 4-диметиламинопиридин)

Для доказательства структуры синтезированных соединений использован комплекс физико-химических методов анализа: ЯМР-спектроскопия ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) и масс-спектрометрия высокого разрешения.

На следующем этапе отработана лабораторная методика получения целевых производных с чистотой не менее 98 % без использования колоночной хроматографии. Из литературы известно [22], что кеторолак в виде кислоты под воздействием света и кислорода подвергается разложению с образованием ряда побочных продуктов декарбоксилирования и окисления. В работе [23] показана термическая нестабильность кеторолака трометамин как в кислых, так и в

щелочных средах. Поэтому осуществлен поиск условий проведения синтеза в несколько этапов с целью увеличения степени чистоты и выхода трис-производного **3**. Первоначально для оценки влияния присутствия хлороводорода в реакционной смеси на процессы кислотно-катализируемой деструкции кеторолака фармацевтическую субстанцию пиридоксина гидрохлорида заменили на пиридоксин. При этом разработка реакционной смеси также упростилась и включала две операции: фильтрование для отделения дициклогексилмочевины и промывание водой. Анализ реакционной смеси после разработки методом ВЭЖХ показал, что замена пиридоксина гидрохлорида на пиридоксин обеспечила уменьшение образования побочных продуктов в реакционной смеси. Содержание основного продукта после промывания реакционной смеси водой составило 78.5 % (реакция 2, табл. 1).

Табл. 1

Условия получения трис-производного пиридоксина с кеторолаком

№ реакции	Пиридоксин гидрохлорид, экв	Пиридоксин, экв	Кеторолак, экв	DCC, экв	DMAP, экв	$t$ , °C	Аргон	Свет	$t_{\text{синтеза}}$ , ч	$\omega$ основного продукта, % (ВЭЖХ)
1	1.00	—	3.00	3.00	1.00	25	—	—	24	42.0
2	—	1.00	3.15	3.15	1.00	25	—	—	2	78.5
3	—	1.00	3.15	3.15	1.00	0	+	+	2	92.7
4	—	1.00	3.05	3.20	1.00	0	+	+	2	93.1
5	—	1.00	4.00	3.15	1.00	0	+	+	2	92.1
6	—	1.00	3.15	3.15	1.00	0 25	+	+	1.5 5	95.6
7	—	1.00	3.15	3.15	0.50	0 25	+	+	2 72	98.3

Варьирование условий проведения реакции показало, что синтез при 0 °C в среде аргона и в отсутствии света обеспечил увеличение содержания основного продукта в реакционной смеси до 92.7 % (реакция 3, табл. 1). Варьирование количества кеторолака (3.0–4.0 экв) не привело к значительному изменению содержания основного продукта (92.1–93.1 %) (реакции 4 и 5, табл. 1). Напротив, увеличение времени реакции до 1.5 ч при 0 °C с последующим выдерживанием реакционной смеси при 25 °C в течение 5 ч позволило довести чистоту соединения **3** до 95 % (реакция 6, табл. 1). Дальнейшее увеличение времени реакции при 0 °C до 2 ч с последующим выдерживанием смеси при 25 °C в течение 72 ч, а также уменьшение количества DMAP до 0.5 экв привело к получению целевого продукта с чистотой > 98 % (реакция 7, табл. 1), т. е. позволило решить поставленную задачу. Хроматограмма соединения **3**, полученного по условиям реакции 7, представлена на рис. 2. Следует отметить, что помимо действующего вещества в продукте реакции присутствуют четыре неидентифицированные примеси, содержание которых составляет от 0.18 до 0.89 %. Суммарное содержание примесей равно 1.72 %.



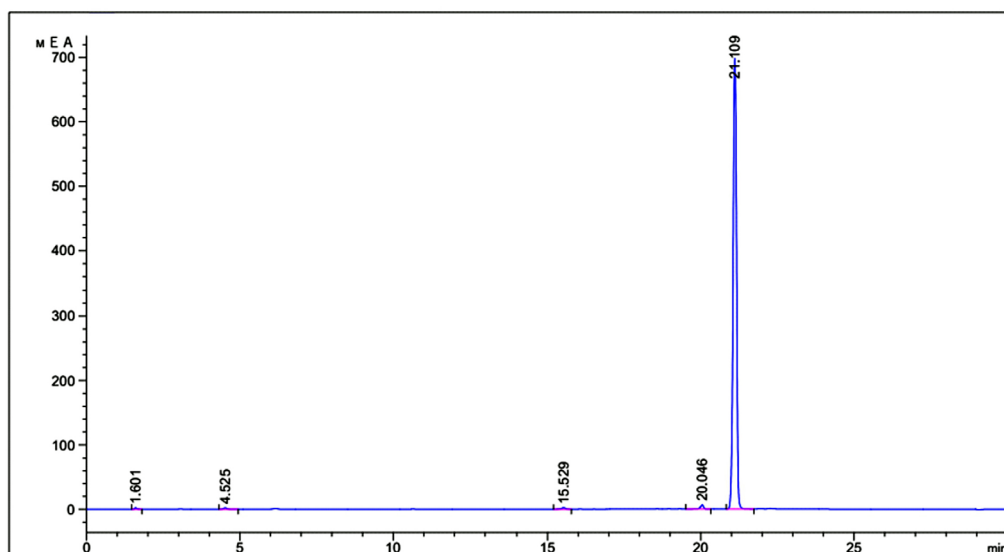


Рис. 2. Хроматограмма соединения **3**, полученного по условиям синтеза 7

**2.1. Оценка цитотоксичности трис- и тетракис-производных **3** и **4**.** На первом этапе исследована цитотоксичность трис- и тетракис-производных **3** и **4** в отношении условно-нормальных клеток человека MSC (мультипатентные клетки человека) и HSF (фибробласты кожи человека) с использованием МТТ-теста (табл. 2). Полученные данные демонстрируют, что синтезированные соединения являются нетоксичными по отношению к изученным линиям клеток.

Табл. 2

Величины концентраций полумаксимального ингибирования роста условно-нормальных клеток ( $CC_{50}$ ) в присутствии трис- и тетракис-производных **3** и **4**

Соединение	$CC_{50}$ , мкМ	
	MSC	HSF
<b>3</b>	> 500	> 500
<b>4</b>	> 500	> 500

**2.2. Исследование острой токсичности полученных соединений.** Поскольку тесты *in vitro* показали низкую цитотоксичность синтезированных производных **3** и **4**, то на следующем этапе оценена их безопасность *in vivo* [21]. Начальная доза при введении соединений **3** и **4** животным составила 400 мг/кг. Выбор начальной дозы основан на анализе литературных данных, согласно которым  $LD_{50}$  кеторолака составляет 189 мг/кг [21]. При введении начальной дозы гибель животных не наблюдали, поэтому для тестируемой группы дозу последовательно увеличили до 800, а затем до 2000 мг/кг (табл. 3). Из данных таблицы следует, что трис- и тетракис-производные пиридоксина характеризуются значительно большими значениями  $LD_{50}$ , т. е. они являются более безопасными по сравнению с кеторолаком.

Табл. 3

Результаты исследования острой токсичности на крысах при внутрижелудочном введении соединений **3** и **4**

Соединение	Введенная доза, мг/кг	Число погибших животных/в группе	Значение ЛД <sub>50</sub> , мг/кг
<b>3</b>	400	0/10	> 2000
	800	0/10	
	2000	0/10	
<b>4</b>	400	0/10	> 2000
	800	0/10	
	2000	2/10	
Кеторолак трометамин	—	—	189

**2.3. Исследование анальгетической активности трис- и тетракис-производных пиридоксина и кеторолака **3**, **4** в тесте «Горячая пластина».** Удостоверившись в благоприятном профиле безопасности соединений **3** и **4**, мы изучили их анальгетическую активность в тесте термического раздражения «Горячая пластина» на крысах. Расчет доз исследуемых веществ осуществляли эквивалентно дозам препарата сравнения [24, 25].

Установлено, что через 1 и 2 ч после перорального введения пролекарственных средств **3** и **4** анальгетическая активность сохраняется на уровне препарата сравнения – кеторолака трометамина (табл. 4).

Табл. 4

Анальгетическая активность трис- и тетракис-производных пиридоксина и кеторолака **3**, **4** в тесте «Горячая пластина»

Соединение	Введенная доза, мг/кг	Пол	Латентное время болевой реакции через 1 ч после введения, с	Латентное время болевой реакции через 2 ч после введения, с
<b>3</b>	6.10	Самцы	11.8 ± 3.4	13.6 ± 4.3
		Самки	11.9 ± 4.0	13.3 ± 3.4
<b>4</b>	5.83	Самцы	17.1 ± 4.7*	14.4 ± 3.4
		Самки	16.2 ± 6.6	16.2 ± 9.1
Кеторолак трометамин	5.00	Самцы	11.5 ± 3.5	15.5 ± 4.4
		Самки	12.6 ± 3.9	13.7 ± 2.7
Контрольная группа	—	Самцы	11.4 ± 4.2	
		Самки	10.0 ± 2.3	

Примечание: \* – статистически значимое отличие от контрольной группы

### Заключение

Таким образом, разработан метод получения трис- и тетракис-производных пиридоксина и кеторолака с чистотой более 98 % по данным ВЭЖХ. На основе полученных данных по безопасности и анальгетической активности сделан вывод, что эти пролекарственные бифармакофорные производные являются перспективными кандидатами в лекарственные средства с высокой анальгетической активностью и улучшенным профилем безопасности по сравнению с самым эффективным неопиодным анальгетиком – кеторолаком.

**Закключение Комитета по этике.** Исследования с участием животных одобрены Локальным этическим комитетом Казанского (Приволжского) федерального университета (протокол № 38 от 04.10.2022).

**Благодарности.** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-23-00350, <https://rscf.ru/project/24-23-00350/>.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Литература

1. *Bacchi S., Palumbo P., Sponta A., Coppolino M.F.* Clinical pharmacology of non-steroidal anti-inflammatory drugs: A review // *Anti-Inflammatory Anti-Allergy Agents Med. Chem.* 2012. V. 11, No 1. P. 52–64. <https://doi.org/10.2174/187152312803476255>.
2. *Handa O., Naito Y., Fukui A., Omatsu T., Yoshikawa T.* The impact of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the small intestinal epithelium // *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2014. V. 54, No 1. P. 2–6. <https://doi.org/10.3164/jcbn.13-84>.
3. *Conaghan P.G.* A turbulent decade for NSAIDs: Update on current concepts of classification, epidemiology, comparative efficacy, and toxicity // *Rheumatol. Int.* 2012. V. 32, No 6. P. 1491–1502. <https://doi.org/10.1007/s00296-011-2263-6>.
4. *Bjarnason I., Scarpignato C., Takeuchi K., Rainsford K.D.* Determinants of the short-term gastric damage caused by NSAIDs in man // *Aliment Pharmacol. Ther.* 2007. V. 26, No 1. P. 95–106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03348.x>.
5. *Sehajpal S., Prasad D.N., Singh R.K.* Prodrugs of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): A long march toward synthesis of safer NSAIDs // *Mini-Rev. Med. Chem.* 2018. V. 18, No 14. P. 1199–1219. <https://doi.org/10.2174/1389557518666180330112416>.
6. *Ahmed M., Azam F., Gbaj A., Zetrini A.E., Abodlal A.S., Rghigh A., Elmahdi E., Hamza A., Salama M., Bensaber S.M.* Ester prodrugs of ketoprofen: Synthesis, in vitro stability, in vivo biological evaluation and in silico comparative docking studies against COX-1 and COX-2 // *Curr. Drug Discovery Technol.* 2016. V. 13, No 1. P. 41–57. <https://doi.org/10.2174/1570163813666160119092807>.
7. *Bonina F., Puglia C., Santagati N.A., Saija A., Tomaino A., Tita B.* Oligoethylene ester derivatives of ketoprofen, naproxen and diclofenac as oral prodrugs: A pharmacological evaluation // *Pharmazie.* 2002. V. 57, No 8. P. 552–555.
8. *Jain S., Tran S., El Gendy M.A.M., Kashfi K., Jurasz P., Velázquez-Martínez C.A.* Nitric oxide release is not required to decrease the ulcerogenic profile of nonsteroidal anti-inflammatory drugs // *J. Med. Chem.* 2012. V. 55, No 2. P. 688–696. <https://doi.org/10.1021/jm200973j>.
9. *Dalpiaz A., Pavan B., Scaglianti M., Vitali F., Bortolotti F., Biondi C., Scatturin A., Manfredini S.* Vitamin C and 6-amino-vitamin C conjugates of diclofenac: Synthesis and evaluation // *Int. J. Pharm.* 2005. V. 291, Nos 1–2. P. 171–181. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.07.054>.
10. *Zovko M., Zorc B., Jadrijević-Mladar Takač M., Metelko B., Novak P.* The novel ketoprofenamides: Synthesis and spectroscopic characterization // *Croat. Chem. Acta.* 2003. V. 76, No 4. P. 335–341.
11. *Mizrahi B., Domb A.J.* Anhydride prodrug of ibuprofen and acrylic polymers // *AAPS PharmSciTech.* 2009. V. 10, No 2. P. 453–458. <https://doi.org/10.1208/s12249-009-9228-z>.
12. *Khalaj A., Amanlou M., Jorjani M.* Cyclic acetal-like derivatives of diclofenac: Synthesis and in-vivo evaluation in rats // *Pharm. Pharmacol. Commun.* 1998. V. 4, No 4. P. 201–203. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1998.tb00335.x>.

13. *Abdellatif K.R.A., Abdelall E.K.A., Bakr R.B.* Nitric oxide-NASIDs donor prodrugs as hybrid safe anti-inflammatory agents // *Curr. Top. Med. Chem.* 2017. V. 17, No 8. P. 941–955. <https://doi.org/10.2174/1568026616666160927153435>.
14. *Штырлин Ю.Г., Павельев Р.С., Иксанова А.Г., Штырлин Н.В., Пугачев М.В., Балакин К.В., Аймалетдинов А.А., Ганиев И.М., Маланьева А.Г.* Нестероидное противовоспалительное средство на основе напроксена, обладающее низкой гастротоксичностью // Патент РФ на изобретение № 2629367. 2017. Бюл. ФИПС № 25.
15. *Штырлин Ю.Г., Петухов А.С., Стрельник А.Д., Штырлин Н.В., Иксанова А.Г., Пугачев М.В., Павельев Р.С., Дзюркевич М.С., Гарипов М.Р., Балакин К.В.* Химия пиридоксина в разработке лекарственных средств // *Изв. АН. Сер. хим.* 2019. № 5. С. 911–945. <https://doi.org/10.1007/s11172-019-2504-5>.
16. *Штырлин Ю.Г., Агафонова М.Н., Бондарь О.В., Балакин К.В., Хазиев Р.М., Казакова Р.Р., Сапожников С.В., Стрельник А.Д., Пугачев М.В., Штырлин Н.В.* Химия пиридоксина в разработке лекарственных средств. Казань: Издательство Казанского университета, 2022. 173 с.
17. *Куташов В.А., Сахаров И.Е.* Клиническая эффективность и безопасность кеторолака в терапии болевого синдрома в неврологической практике // *РМЖ.* 2014. Т. 22, Вып. 16. С. 1173–1177.
18. *Strom B.L., Berlin J.A., Kinman J.L., Spitz P.W., Hennessy S., Feldman H., Kimmel S., Carson J.L.* Parenteral ketorolac and risk of gastrointestinal and operative site bleeding: A postmarketing surveillance study // *JAMA.* 1996. V. 275, No 5. P. 376–382. <https://doi.org/10.1001/jama.1996.03530290046036>.
19. *Feldman H.I., Kinman J.L., Berlin J.A., Hennessy S., Kimmel S.E., Farrar J., Carson J.L., Strom B.L.* Parenteral ketorolac: The risk for acute renal failure // *Ann. Intern. Med.* 1997. V. 126, No 3. P. 193–199. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-126-3-199702010-00003>.
20. *Hunter L.J., Wood D.M., Dargan P.I.* The patterns of toxicity and management of acute nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) overdose // *Open Access Emerg. Med.* 2011. V. 2011, No 3. P. 39–48. <https://doi.org/10.2147/OAEM.S22795>.
21. *Миронов А.Н.* Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
22. *Gu L., Chiang H.-S., Johnson D.* Light degradation of ketorolac tromethamine // *Int. J. Pharm.* 1988. V. 41, Nos 1–2. P. 105–113. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(88\)90142-1](https://doi.org/10.1016/0378-5173(88)90142-1).
23. *Gu L., Chiang H.-S., Becker A.* Kinetics and mechanisms of the autoxidation of ketorolac tromethamine in aqueous solution // *Int. J. Pharm.* 1988. V. 41, Nos 1–2. P. 95–104. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(88\)90141-X](https://doi.org/10.1016/0378-5173(88)90141-X).
24. *Kohn D.F., Martin T.E., Foley P.L., Morris T.H., Swindle M.M., Vogler G.A., Wixson S.K.* Guidelines for the assessment and management of pain in rodents and rabbits // *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 2007. V. 46, No 2. P. 97–108.
25. *Rahman M.M., Begum N., Abdur Rouf M., Masood S.* Synergistic antinociceptive, anti-inflammatory interaction between vitamin B12 and ketorolac in long Evans rats // *EJ-CLINICMED.* 2021. V. 2, No 3. P. 105–110. <https://doi.org/10.24018/clinicmed.2021.2.3.94>.

Поступила в редакцию 26.07.2024

Принята к публикации 11.08.2024

**Пугачев Михаил Владимирович**, кандидат химических наук, старший научный сотрудник отдела медицинской химии Научно-образовательного центра фармацевтики

Казанский (Приволжский) федеральный университет  
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия  
E-mail: [mpugache@kpfu.ru](mailto:mpugache@kpfu.ru)

**Штырлин Никита Валерьевич**, кандидат химических наук, старший научный сотрудник НИЛ «Лаборатория по разработке лекарственных средств для терапии заболеваний, вызываемых резистентными микроорганизмами» Научно-образовательного центра фармацевтики

Казанский (Приволжский) федеральный университет  
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия  
E-mail: *Nikita.Shtyrin@kpfu.ru*

**Агафонова Мария Николаевна**, кандидат химических наук, старший научный сотрудник НИЛ «Лаборатория по разработке лекарственных средств для терапии заболеваний, вызываемых резистентными микроорганизмами» Научно-образовательного центра фармацевтики

Казанский (Приволжский) федеральный университет  
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия  
E-mail: *Mariya.Agafonova@kpfu.ru*

**Васильева Ольга Сергеевна**, научный сотрудник НИЛ «Лаборатория по разработке лекарственных средств для терапии заболеваний, вызываемых резистентными микроорганизмами» Научно-образовательного центра фармацевтики

Казанский (Приволжский) федеральный университет  
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия  
E-mail: *OISVasileva@kpfu.ru*

**Фафанова Екатерина Михайловна**, лаборант-исследователь НИЛ «Медицинские материалы» Научно-образовательного центра фармацевтики

Казанский (Приволжский) федеральный университет  
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия  
E-mail: *EMFafanova@stud.kpfu.ru*

**Штырлин Юрий Григорьевич**, доктор химических наук, доцент, ведущий научный сотрудник Научно-образовательного центра фармацевтики

Казанский (Приволжский) федеральный университет  
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия  
E-mail: *Yurii.Shtyrin@kpfu.ru*

---

ISSN 2542-064X (Print)

ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI  
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2024, vol. 166, no. 4, pp. 608–622

---

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.608-622

### Synthesis and Analgesic Properties of Prodrug Bipharmacophore Compounds Based on Pyridoxine and Ketorolac

*M.V. Pugachev*<sup>\*</sup>, *N.V. Shtyrin*<sup>\*\*</sup>, *M.N. Agafoнова*<sup>\*\*\*</sup>, *O.S. Vasileva*<sup>\*\*\*\*</sup>, *E.M. Fafanova*<sup>\*\*\*\*\*</sup>,  
*Y.G. Shtyrin*<sup>\*\*\*\*\*</sup>

*Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia*

E-mail: *\*mpugache@kpfu.ru*, *\*\*Nikita.Shtyrin@kpfu.ru*, *\*\*\*Mariya.Agafoнова@kpfu.ru*,  
*\*\*\*\*OISVasileva@kpfu.ru*, *\*\*\*\*\*EMFafanova@stud.kpfu.ru*, *\*\*\*\*\*Yurii.Shtyrin@kpfu.ru*

Received July 26, 2024; Accepted August 11, 2024

#### Abstract

Prodrug bipharmacophore anti-inflammatory compounds based on pyridoxine and ketorolac were synthesized. A new laboratory method was developed to achieve > 98 % purity of these compounds, without the use of column chromatography. Compared to ketorolac tromethamine, which is the most potent non-opioid analgesic, both compounds exhibited lower toxicity (LD<sub>50</sub> > 2000 mg/kg), while maintaining comparable analgesic efficacy in a model of acute thermal pain response.

**Keywords:** pyridoxine, ketorolac, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), analgesic activity, safety

**Institutional Review Board Statement.** The animal study protocol was approved by the Local Ethics Committee of Kazan Federal University (protocol no. 38 dated October 4, 2022).

**Acknowledgments.** This study was supported by the Russian Science Foundation (project no. 24-23-00350, <https://rscf.ru/en/project/24-23-00350/>).

**Conflicts of Interest.** The authors declare no conflicts of interest.

### Figure Captions

Fig. 1. Structure of the anti-inflammatory drug KFU-01.

Scheme 1. Synthesis of biparmacophore anti-inflammatory compounds based on pyridoxine and ketorolac (DCC – dicyclohexylcarbodiimide, DMAP – 4-dimethylaminopyridine).

Fig. 2. Chromatogram of compound 3 synthesized using route 7.

### References

1. Bacchi S., Palumbo P., Sponta A., Coppolino M.F. Clinical pharmacology of non-steroidal anti-inflammatory drugs: A review. *Anti-Inflammatory Anti-Allergy Agents Med. Chem.*, 2012, vol. 11, no. 1, pp. 52–64. <https://doi.org/10.2174/187152312803476255>.
2. Handa O., Naito Y., Fukui A., Omatsu T., Yoshikawa T. The impact of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the small intestinal epithelium. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 2014, vol. 54, no. 1, pp. 2–6. <https://doi.org/10.3164/jcbn.13-84>.
3. Conaghan P.G. A turbulent decade for NSAIDs: Update on current concepts of classification, epidemiology, comparative efficacy, and toxicity. *Rheumatol. Int.*, 2012, vol. 32, no. 6, pp. 1491–1502. <https://doi.org/10.1007/s00296-011-2263-6>.
4. Bjarnason I., Scarpignato C., Takeuchi K., Rainsford K.D. Determinants of the short-term gastric damage caused by NSAIDs in man. *Aliment Pharmacol. Ther.*, 2007, vol. 26, no. 1, pp. 95–106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03348.x>.
5. Sehajpal S., Prasad D.N., Singh R.K. Prodrugs of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): A long march toward synthesis of safer NSAIDs. *Mini-Rev. Med. Chem.*, 2018, vol. 18, no. 14, pp. 1199–1219. <https://doi.org/10.2174/1389557518666180330112416>.
6. Ahmed M., Azam F., Gbaj A., Zetrini A.E., Abodlal A.S., Rghigh A., Elmahdi E., Hamza A., Salama M., Bensaber S.M. Ester prodrugs of ketoprofen: Synthesis, in vitro stability, in vivo biological evaluation and in silico comparative docking studies against COX-1 and COX-2. *Curr. Drug Discovery Technol.*, 2016, vol. 13, no. 1, pp. 41–57. <https://doi.org/10.2174/1570163813666160119092807>.
7. Bonina F., Puglia C., Santagati N.A., Saija A., Tomaino A., Tita B. Oligoethylene ester derivatives of ketoprofen, naproxen and diclofenac as oral prodrugs: A pharmacological evaluation. *Pharmazie*, 2002, vol. 57, no. 8, pp. 552–555.
8. Jain S., Tran S., El Gendy M.A.M., Kashfi K., Jurasz P., Velázquez-Martínez C.A. Nitric oxide release is not required to decrease the ulcerogenic profile of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J. Med. Chem.*, 2012, vol. 55, no. 2, pp. 688–696. <https://doi.org/10.1021/jm200973j>.
9. Dalpiaz A., Pavan B., Scaglianti M., Vitali F., Bortolotti F., Biondi C., Scatturin A., Manfredini S. Vitamin C and 6-amino-vitamin C conjugates of diclofenac: Synthesis and evaluation. *Int. J. Pharm.*, 2005, vol. 291, nos. 1–2, pp. 171–181. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.07.054>.
10. Zovko M., Zorc B., Jadrijević-Mladar Takač M., Metelko B., Novak P. The novel ketoprofenamides: Synthesis and spectroscopic characterization. *Croat. Chem. Acta*, 2003, vol. 76, no. 4, pp. 335–341.
11. Mizrahi B., Domb A.J. Anhydride prodrug of ibuprofen and acrylic polymers. *AAPS PharmSciTech*, 2009, vol. 10, no. 2, pp. 453–458. <https://doi.org/10.1208/s12249-009-9228-z>.
12. Khalaj A., Amanlou M., Jorjani M. Cyclic acetal-like derivatives of diclofenac: Synthesis and in-vivo evaluation in rats. *Pharm. Pharmacol. Commun.*, 1998, vol. 4, no. 4, pp. 201–203. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1998.tb00335.x>.



13. Abdellatif K.R.A., Abdelall E.K.A., Bakr R.B. Nitric oxide-NASIDs donor prodrugs as hybrid safe anti-inflammatory agents. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2017, vol. 17, no. 8, pp. 941–955. <https://doi.org/10.2174/1568026616666160927153435>.
14. Shtyrlin Yu.G., Pavel'ev R.S., Iksanova A.G., Shtyrlin N.V., Pugachev M.V., Balakin K.V., Aimaletdinov A.M., Ganiev I.M., Malaneva A.G. Nonsteroid anti-inflammatory agent based on naproxen with low gastrototoxicity. Patent RF no. 2629367. Byull. FIPS, 2017, no. 25. (In Russian)
15. Shtyrlin Y.G., Petukhov A.S., Strel'nik A.D., Shtyrlin N.V., Iksanova A.G., Pugachev M.V., Pavelyev R.S., Dzyurkevich M.S., Garipov M.R., Balakin K.V. Chemistry of pyridoxine in drug design. *Russ. Chem. Bull.*, 2019, vol. 68, no. 5, pp. 911–945. <https://doi.org/10.1007/s11172-019-2504-5>.
16. Shtyrlin Yu.G., Agafonova M.N., Bondar' O.V., Balakin K.V., Khaziev R.M., Kazakova R.R., Sapozhnikov S.V., Strel'nik A.D., Pugachev M.V., Shtyrlin N.V. *Khimiya piridoksina v razrabotke lekarstvennykh sredstv* [Pyridoxine Chemistry in Drug Development]. Kazan, Izd. Kazan. Univ., 2022. 173 p. (In Russian)
17. Kutashov V.A., Sakharov I.E. Clinical efficacy and safety of ketorolac in treating pain syndrome in neurological practice. *Russ. Med. Zh.*, 2014, vol. 22, no. 16, pp. 1173–1177. (In Russian)
18. Strom B.L., Berlin J.A., Kinman J.L., Spitz P.W., Hennessy S., Feldman H., Kimmel S., Carson J.L. Parenteral ketorolac and risk of gastrointestinal and operative site bleeding: A postmarketing surveillance study. *JAMA*, 1996, vol. 275, no. 5, pp. 376–382. <https://doi.org/10.1001/jama.1996.03530290046036>.
19. Feldman H.I., Kinman J.L., Berlin J.A., Hennessy S., Kimmel S.E., Farrar J., Carson J.L., Strom B.L. Parenteral ketorolac: The risk for acute renal failure. *Ann. Intern. Med.*, 1997, vol. 126, no. 3, pp. 193–199. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-126-3-199702010-00003>.
20. Hunter L.J., Wood D.M., Dargan P.I. The patterns of toxicity and management of acute nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) overdose. *Open Access Emerg. Med.*, 2011, vol. 2011, no. 3, pp. 39–48. <https://doi.org/10.2147/OAEM.S22795>.
21. Mironov A.N. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv* [Guidelines for Preclinical Studies of Drugs]. Moscow, Grif i K, 2012. 944 p. (In Russian)
22. Gu L., Chiang H.-S., Johnson D. Light degradation of ketorolac tromethamine. *Int. J. Pharm.*, 1988, vol. 41, nos. 1–2, pp. 105–113. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(88\)90142-1](https://doi.org/10.1016/0378-5173(88)90142-1).
23. Gu L., Chiang H.-S., Becker A. Kinetics and mechanisms of the autoxidation of ketorolac tromethamine in aqueous solution. *Int. J. Pharm.*, 1988, vol. 41, nos. 1–2, pp. 95–104. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(88\)90141-X](https://doi.org/10.1016/0378-5173(88)90141-X).
24. Kohn D.F., Martin T.E., Foley P.L., Morris T.H., Swindle M.M., Vogler G.A., Wixson S.K. Guidelines for the assessment and management of pain in rodents and rabbits. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.*, 2007, vol. 46, no. 2, pp. 97–108.
25. Rahman M.M., Begum N., Abdur Rouf M., Masood S. Synergistic antinociceptive, anti-inflammatory interaction between vitamin B12 and ketorolac in long Evans rats. *EJ-CLINICMED*, 2021, vol. 2, no. 3, pp. 105–110. <https://doi.org/10.24018/clinicmed.2021.2.3.94>.

Для цитирования: Пугачев М.В., Штырлин Н.В., Агафонова М.Н., Васильева О.С., Фафанова Е.М., Штырлин Ю.Г. Синтез и анальгетическая активность пролекарственных бифармакофорных производных на основе пиридоксина и кеторолака // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 4. С. 608–622. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.608-622>.

For citation: Pugachev M.V., Shtyrlin N.V., Agafonova M.N., Vasileva O.S., Fafanova E.M., Shtyrlin Y.G. Synthesis and analgesic properties of prodrug biparmacophore compounds based on pyridoxine and ketorolac. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 4, pp. 608–622. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.608-622>. (In Russian)