

УДК 591.5:612.014.46

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СОЛЕЙ САЛИЦИЛОВОЙ И АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТ

*Яковчук Т.В., Катюшина О.В., Хусаинов Д.Р., Коренюк И.И., Гамма Т.В.,
Чертаев И.В., Колотилова О.И.*

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: katsea87@mail.ru*

В работе с помощью «формалинового теста» показано наличие противовоспалительной активности ацетилсалицилатов кобальта (АСК) и цинка (АСЦ) и салицилатов кобальта (СК) и цинка (СЦ). При этом АСЦ оказался более эффективным противовоспалительным средством, чем аспирин, который является классическим противовоспалительным препаратом.

Ключевые слова: аспирин, салицилат кобальта, салицилат цинка, ацетилсалицилат кобальта, ацетилсалицилат цинка, «формалиновый тест».

ВВЕДЕНИЕ

Аспирин (или ацетилсалициловая кислота) относится к классу нестероидных противовоспалительных препаратов, которые сочетают в себе также жаропонижающее и болеутоляющее действие [1, 2]. Большая "популярность" НПВП объясняется тем, что они вызывают неспецифический противовоспалительный эффект, оказывая тормозное влияние на любой воспалительный процесс независимо от его этиологических и нозологических особенностей [3]. Антифлогистический эффект аспирина, как и других НПВП основан на ингибировании ферментов класса циклооксигеназ [4, 5], которые играют ключевую роль в протекании воспалительных процессов. В результате чего тормозится биосинтез одних из основных медиаторов воспаления – простагландинов (ПГ) [6, 7]. Однако, как и почти все НПВП, аспирин вызывает ряд побочных эффектов: провоцирует язвообразование в желудке, оказывает отрицательное воздействие на клетки печени и крови [3, 8, 9, 10]. Одной из причин этого является нарушение функционирования и регуляции энергетического метаболизма клеток печени, в частности цикла Кребса. Известно, что аспирин и его производные могут влиять на различные процессы, протекающие в митохондриях клеток печени, уменьшает концентрацию кофермента А, разобщает окислительное фосфорилирование, ингибирует α -кетоглутаратдегидрогеназу, сукцинатдегидрогеназу и β -окисление жирных кислот [11]. В рамках исследовательского проекта «Биологические функции металлорганических соединений», который финансируется Немецким Научным Фондом, было выявлено, что комплекс гексакарбонилдикобальта с аспирином («Со-аспирин») ингибирует ферментативную активность циклооксигеназ по иному, чем

аспирин, механизму: аспирин ацетирует сериновые остатки в активном центре циклооксигеназ, а «Со-аспирин» не атакует эти группы, а ацетирует несколько других сайтов. Такое действие «Со-аспирина» также может блокировать работу активного центра циклооксигеназы, однако эта активность будет иметь другое происхождение, возможно с меньшим спектром побочного действия [12]. В связи с этим, соли салициловой и ацетилсалициловой кислот (ацетилсалицилата цинка – АСЦ, ацетилсалицилата кобальта – АСК, салицилата цинка – СЦ, салицилата кобальта – СК) являются интересным объектом исследования противовоспалительной активности в поиске более эффективного препарата, чем широко используемый аспирин.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на 140 взрослых белых крысах-самцах массой 200-250 г. Для экспериментов отбирали животных со средней двигательной активностью, преобладающих в популяции и, следовательно, можно утверждать, что именно у этих крыс будет развиваться наиболее типичная реакция на любое воздействие.

Для моделирования острого воспаления использовали стандартный «формалиновый тест», являющийся классической моделью определения эффективности противовоспалительного действия фармакологических препаратов и физиотерапевтических факторов [13, 14]. Инъекцию формалина (1%) осуществляли в тыльную поверхность стопы задней лапы в объеме 0,2 мл.

После этого животных разделили на 7 групп по 20 крыс в каждой. Исследуемые вещества (АСК, АСЦ, СК, СЦ) вводили экспериментальным группам животных внутрибрюшинно за 30 мин до тестирования в объеме 0,2-0,25 мл в дозе 40 мг/кг. Группой плацебо служили животные, которым вместо тестируемых веществ на фоне воспаления вводили физиологический раствор в идентичных пропорциях. Также для сравнения противовоспалительной активности новых препаратов двум контрольным группам мы вводили салициловую (контроль № 1) и ацетилсалициловую кислоты (контроль № 2) соответственно, которые являются классическими противовоспалительными средствами. Измерения размера отека конечности начинали через 30 мин после введения вещества и осуществляли их с интервалом 12 мин в течение 96 мин. Эффективность противовоспалительного действия определялась классически: по уменьшению отека. Таким образом, более его выразительное уменьшение свидетельствует о большей терапевтической эффективности препарата.

Полученные данные обрабатывали с помощью непараметрического метода Манна-Уитни. Для наглядности результаты представлены в относительных единицах (%), где норму (исходный диаметр конечности) принимали за 100%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных данных показал, что все протестированные вещества обладали противовоспалительной активностью. Экспериментальные данные сравнивались со значениями, полученными в контрольной группе. Причем

динамика уменьшения опухоли была более выраженной у экспериментальных групп. Однако выраженный противовоспалительный эффект данных веществ проявлялся только во второй половине эксперимента (после 60 мин). Необходимо отметить, что у животных, которым вводились исследуемые вещества, к концу эксперимента (126 мин) размеры и цвет поврежденной лапы практически во всех случаях возвращались в исходное состояние. Такого не наблюдалось у контрольной группы: оставалось покраснение, размеры лапы отличались от исходных.

Противовоспалительная активность ацетилсалицилатов

На Рис.1 представлены данные изменения размера отека конечности крыс при системном введении животным АСЦ и АСК. Из графика видно, что АСЦ до 66 мин эксперимента не проявлял ярко выраженной противовоспалительной активности. Но, уже начиная с этого времени нами был обнаружен противовоспалительный эффект АСЦ, который выражался в уменьшении размера лап у животных. Так, диаметр опухшей конечности крысы уменьшался более выражено, чем в контрольной группе: на 66 мин на 9%, на 78 мин – 10%, на 90 мин – 14%, на 102 мин – 16%, на 114 мин – 14 % и на 126 мин – 16% соответственно. Нужно отметить, что размер конечностей у лабораторных животных практически возвращался в норму к концу эксперимента, а также отмечено исчезновение признаки гиперемии. Чего не наблюдалось у контрольной группы: оставалось покраснение, размеры лапы отличались от исходных.

Касательно АСК отмечено, что уменьшение диаметра опухшей лапы происходило значительно быстрее, чем в контрольной группе (рис. 1, А). Однако противовоспалительная активность АСК была отмечена намного позже, чем у АСЦ. Только со 102 мин эксперимента наблюдается выраженное уменьшение диаметра лапы. По сравнению с контрольными значениями АСК вызывал достоверное уменьшение размера отека лапы: на 102 мин на 2%, на 114 мин – 1% и на 126 мин – 5% соответственно. Также следует указать, что в конце измерений (на 126 мин) конечности животных приобретали нормальный и цвет, но размер не достигал нормы.

Противовоспалительная активность салицилатов

Анализ данных эксперимента показал, что протестированные комплексные соли салициловой кислоты (СЦ, СК) способствуют уменьшению отека конечности у крыс, то есть обладают противовоспалительной активностью. В отличие от солей ацетилсалициловой кислоты, здесь большее влияние на воспаление оказывает соединение кобальта с кислотой.

Различие в действии вещества проявляется уже на 42 мин опыта (рис. 2). Однако ярко выраженное уменьшение диаметра лапы по сравнению с значениями группы плацебо обнаружено только с 90 мин эксперимента. У группы крыс, которым вводился СК, размер поврежденной лапы достоверно уменьшался по сравнению с плацебо на 90 мин на 4%, на 102 мин – 13%, на 114 мин – 13,6% и на 126 мин – 13% соответственно. Необходимо отметить, что к концу времени измерений размер лап практически возвращается в норму. Такого не наблюдается у животных, которым инъецировали СЦ.

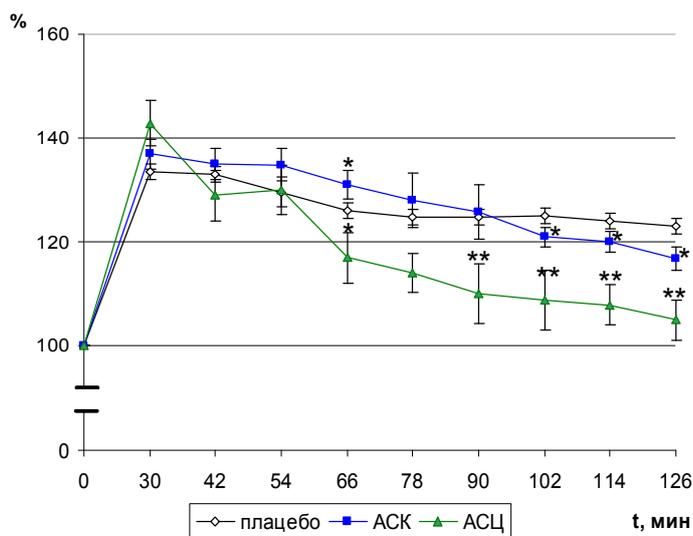


Рис. 1. Противовоспалительная активность ацетилсалицилатов

Примечание: АСК – ацетилсалицилат кобальта, АСЦ – ацетилсалицилат цинка, 100% - норма (исходный диаметр конечности); * - $p \leq 0,05$, ** - $p \leq 0,01$ относительно placebo

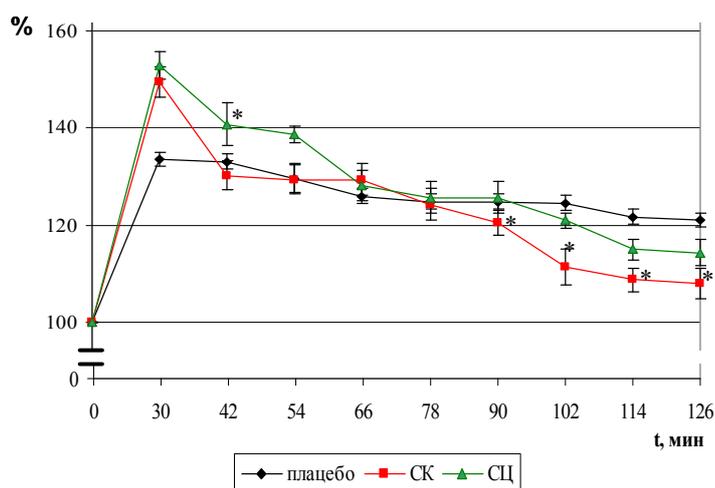


Рис. 2. Противовоспалительная активность салицилатов

Примечание: СК – салицилат кобальта, СЦ – салицилат цинка, 100% - норма (исходный диаметр конечности); * - $p \leq 0,05$ относительно placebo

Динамика противовоспалительной активности СЦ сходна с действием СК, однако обнаруженные изменения размера отека конечности были менее выражены по сравнению с эффектами СК. В результате, обнаружено, что СЦ обладает меньшей противовоспалительной активностью, чем все протестированные нами вещества.

Сравнение противовоспалительной активности салицилата кобальта и ацетилсалицилата цинка с аспирином

В связи с тем, что новосинтезированные соединения являются производными салициловой и ацетилсалициловой кислот, необходимо сравнить их действие с противовоспалительной активностью тестируемых. При этом особое внимание стоит уделить противовоспалительному действию ацетилсалициловой кислоты, так как она является самым эффективным противовоспалительным средством в группе салицилатов. Полученные данные свидетельствуют о том, что из новосинтезированных производных ацетилсалициловой кислоты наиболее эффективным был отмечен АСЦ, а из солей салициловой кислоты – СК.

На Рис. 3 представлены данные сравнения противовоспалительной активности АСЦ и СК с контролем №1 (салициловая кислота) и контролем №2 (аспирин).

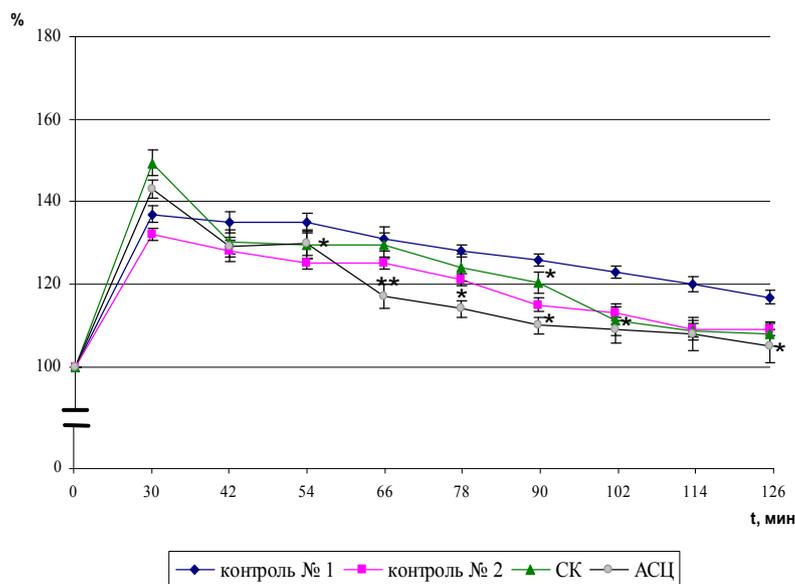


Рис. 3. Противовоспалительная активность салицилата кобальта и ацетилсалицилата цинка с салициловой (контроль № 1) и ацетилсалициловой (контроль № 2) кислотами

Примечание: СК- салицилат кобальта, АСЦ –ацетилсалицилат цинка, 100% - норма (исходный диаметр конечности); ** - $p \leq 0,01$, * - $p \leq 0,05$, относительно контроля № 2.

В результате на графике видно, что начиная с 54 мин экспериментальных замеров, АСЦ и СК оказывают противовоспалительное действие, уменьшая диаметр опухшей конечности животных. Однако с 78 мин по 102 АСЦ оказывает наиболее выраженное действие и на 114 мин у обоих веществ вновь наблюдается уменьшение диаметра воспаленных лап у крыс на одном уровне. Следовательно, АСЦ более эффективное противовоспалительное средство, чем СК. Касательно салициловой

кислоты, для нее отмечена наименьшая противовоспалительная активность по сравнению с другими соединениями.

Таким образом, в результате сравнения противовоспалительного действия ацетилсалициловой кислоты с ее производными, обнаружено, что все исследованные вещества по своей противовоспалительной активности близки к ацетилсалициловой кислоте, при этом ацетилсалицилат цинка даже превосходит ацетилсалициловую кислоту. Следовательно, можно предположить, что механизм действия ацетилсалицилата цинка также осуществляется путем ингибирования ферментативной активности циклооксигеназ, однако АСЦ может блокировать работу активного центра циклооксигеназы как и «Со-аспирин» [11], однако эта активность будет иметь другое происхождение и, возможно, с меньшим спектром побочного действия.

ВЫВОДЫ

1. Соли аспирина – ацетилсалицилат цинка и кобальта обладают противовоспалительным эффектом, при этом ацетилсалицилат цинка является более эффективным противовоспалительным средством по сравнению с ацетилсалицилатом кобальта и ацетилсалициловой кислотой.
2. Соли салициловой кислоты – салицилат цинка и салицилат кобальта оказывают противовоспалительное действие, при этом действие салицилат кобальта превосходит таковое салицилата цинка и салициловой кислоты.
3. Ацетилсалицилат цинка является более эффективным антифлогистическим средством, чем все исследуемые соединения в данной работе.

Список литературы

1. Дзяк Г. В. Нестероидные противовоспалительные препараты / Дзяк Г. В., Викторов А. П., Гришина Е. И. – Киев : МОРИОН, 1999. – 112 с.
2. Зупанец И. А. Современные подходы к клиническому выбору НПВС и ненаркотических анальгетиков / И. А. Зупанец // Журнал практического врача. – 1998. – № 3. – С. 51–52.
3. Викторов А. П. Селективная ингибция изоформ циклооксигеназы: новый подход к изысканию эффективных и безопасных нестероидных противовоспалительных препаратов / А. П. Викторов // Аптека. – 1997. – Т. 106, № 35. – С. 4.
4. Григорьева А. С. Оптимизация фармакотерапевтической активности биометаллов при комплексообразовании с НПВП / А. С. Григорьева // Микроэлементы в медицине. – 2000. – Т. 2, №1 – С. 17-22.
5. Sodium naproxen: concentration and effect on inflammatory response mediators in human rheumatoid synovial fluid. / P. Bertin, F. Lapique, E. Payan [et al] // Eur. J. Clin. Pharmacol. – 1994; 46: 3-7.
6. Абелев Г. И. Воспаление / Г. И. Абелев // Соросовский Образовательный Журнал. – 1996. – № 10. – С. 28–32.
7. Лекарственная терапия воспалительного процесса: экспериментальная и клиническая фармакология противовоспалительных препаратов / [Сигидин Я. А., Шварц Г. Я., Арзамасцев А. П., Либерман С.С.]. – Москва: Медицина, 1988. – 240 с.
8. Гринько А. В. Нестероидные противовоспалительные препараты и желудочно-кишечный тракт / А. В. Гринько, Ю. В. Муравьев // Рус. мед. жур. – 1998. – Т. 6, № 13 – С. 829-831.
9. Chan F. K. Celecoxib versus diclofenac and omeprazole in reducing the risk of recurrent ulcer bleeding in patients with arthritis. / F. K. Chan // N. Engl. J. Med. – 2002. – V. 347. – P. 2104-2110.

10. Dahlen B. Celecoxib in patients with asthma and aspirin intolerance / B. Dahlen // N. Engl. J. Med. – 2001. – V. 344. – P. 142.
11. Mogilevskaya E., Demin O., Goryanin I. Kinetic model of mitochondrial krebs cycle: unraveling the mechanism of salicylate hepatotoxic effects / E. Mogilevskaya, O. Demin, I. Goryanin // Journal of Biological Physics. – 2006. - V. 32, № 3-4. – P. 245-271.
12. Пат. 1793578 Российская Федерация. Способ получения веществ, обладающих противовоспалительным действием / Буркова В.Н., Саратиков А.С., Писарева С.И. и др. БИ; заявл. 1993; опубл. 1996, Бюл. № 27.
13. Хабриев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Хабриев Р. У. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
14. Dubuisson D. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brainstem stimulation in rats and cats / D. Dubuisson, S.G. Dennis // Pain. – 1997. – V. 4. – P. 161-164.

Яковчук Т.В. Протизапальна активність саліцилової і ацетилсаліцилової кислот та їхніх солей / Т.В. Яковчук, О.В. Катюшина, Д.Р. Хусаїнов, І.І. Коренюк, Т.В. Гамма, І.В. Черетаєв, О.І. Колотилова // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 332-338.

У роботі за допомогою «формаліновою тесту» показано наявність протизапальної активності ацетилсаліцилатов кобальту (АСК) і цинку (АСЦ) та саліцилатів кобальту (СК) і цинку (СЦ). При цьому АСЦ виявився більш ефективним протизапальним засобом, ніж аспірин, який є класичним протизапальним препаратом.

Ключові слова: аспірин, саліцилат кобальту, саліцилат цинку, ацетилсаліцилат кобальту, ацетилсаліцилат цинку, «формаліновий тест».

Jakovchuk T.V. Anti-inflammatory activity of salicylic and acetylsalicylic acids and its salts / T.V. Jakovchuk, O.V. Katjushina, D.R. Husainov, I.I. Korenjuk, T.V. Gamma, I.V. Cheretayev, O.I. Kolotilova // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 332-338.

In job with the "formalin test" are showed the presence of anti-inflammatory activity acetylsalicylates of cobalt (ASA) and zinc (ASC) and salicylates of cobalt (SK) and zinc (SZ). In this case, ASC was more effective anti-inflammatory agent than aspirin, that is a reference anti-inflammatory drug.

Keywords: aspirin, salicylate of cobalt, salicylate of zinc, acetylsalicylate of cobalt, acetylsalicylate of zinc, "formalin test".

Поступила в редакцію 22.05.2011 г.