

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГИДРОКИНОНСУЛЬФОКИСЛОТЫ

Судакова О. А., Демидова М. А.

ГБОУ ВПО Тверская государственная медицинская академия, Тверь, Россия, (170100, Тверь, ул. Советская, 4)

Исследования последних лет показали, что свободно-радикальное окисление играет ключевую роль в патогенезе многих воспалительных заболеваний. В то же время в практике лечения и профилактике таких заболеваний все чаще используют антиоксиданты. В связи с этим в настоящее время является актуальным поиск новых противовоспалительных средств с антиоксидантной активностью. В статье изложены данные об исследовании влияния новых производных гидрохинонсультфокислоты, в структуру молекулы которых входит антиоксидант гидрохинон, на течение воспалительного процесса. В экспериментах на 28 белых мышах было показано, что новые производные гидрохинонсультфокислоты обладают умеренной антиэкссудативной активностью. Соединения с лабораторными шифрами ЛХТ 5-10 (70 мг/кг) и ЛХТ 8-10 (70 мг/кг) уменьшали выраженность формалин-индуцированного отёка лапы у мышей, соответственно на 49,7 % и 41,7 % в сравнении с контролем.

Ключевые слова: гидрохинонсультфокислота, формалин-индуцированный отёк, противовоспалительный эффект.

ESTIMATION OF ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF NEW DERIVATIVES HYDROQUINONESULPHONIC ACID

Sudakova O. A., Demidova M. A.

Tver state medical academy, Tver, Russia (170100, Tver, Sovetskaya Street, 4)

In recent years, there has been considerable research interest in the subject of free radical oxidation and its key role in the pathogenesis of many inflammatory diseases. Antioxidants are being used more and more often to treat and prevent such diseases. Thus, developing new anti-inflammatory drugs with antioxidant properties is of vital importance. The article presents the findings from a study of the influence of new derivatives of hydroquinone sulphonic acid on the inflammatory process. The experiments on 28 white mice demonstrated moderate antiexudative effect of the new derivatives of hydroquinone sulphonic acid. The compounds marked LHT 5-10 (70 mg/kg) and LHT 8-10 (70 mg/kg) reduced the formalin-induced edema in the mouse paw by 49.7% and 41.7% respectively as compared to the control group.

Key words: hydroquinonesulphonic acid, formalin-induced edema, anti-inflammatory effect.

Введение

Воспалительный процесс является ведущим патогенетическим звеном многих заболеваний, которые составляют около 80 % всей патологии в практике врача любой специальности. В настоящее время в комплексной терапии острых и хронических заболеваний для купирования боли и уменьшения выраженности воспалительной реакции применяют большое число лекарственных препаратов преимущественно из группы нестероидных противовоспалительных средств и глюкокортикостероидов. Однако наряду с благоприятным фармакологическим действием и достаточной степенью клинической эффективности, все они вызывают ряд нежелательных побочных реакций. В связи с этим

остаётся актуальным поиск высокоэффективных лекарственных средств, подавляющих воспаление и обладающих минимальными побочными реакциями.

Известно, что в патогенезе воспаления значительную роль играют свободные радикалы, которые обладают высокой реактогенной способностью. Образование свободных радикалов является физиологической реакцией, но при чрезмерной активации и высоких концентрациях свободных радикалов происходит повреждение мембран клеток и субклеточных структур, что приводит к развитию заболеваний. Одним из подходов в лечении таких заболеваний, патогенетическим фактором которых является свободно-радикальная патология, является использование антиоксидантов.

Известно, что антиоксиданты различной химической структуры обладают противовоспалительными свойствами, как при внутреннем, так и при наружном применении (мексидол, димефосфон, витамин Е и др.) [1]. В связи с этим перспективным направлением поиска лекарств является исследование новых противовоспалительных препаратов с антиоксидантной активностью при лечении воспалительных заболеваний широкого круга.

Так, одной из перспективных групп для поиска новых противовоспалительных ЛС являются производные гидрохиноссульфоислоты (2,5-дигидроксibenзолсульфоислоты $(\text{OH})_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{H}$), обладающие антиоксидантной активностью [3]. Антиоксидантные свойства молекуле гидрохиноссульфоислоты придает присутствие в ней дигидроксibenзола. Гидрохинон (п-дигидроксibenзол) обладает высокой реакционной способностью, участвует в окислительно-восстановительных реакциях, благодаря своей способности превращаться в хинон. Восстановительная способность гидрохинонового фрагмента реализуется в окислительно-восстановительных процессах, сопровождающих дыхание [5].

Известно, что гидрохинон является структурным элементом ряда природных соединений, например, токоферолов, фенольного гликозида арбутина. В медицинской практике используют антимикробные свойства гидрохинона (гидрохинон является продуктом гидролиза арбутина – основного действующего вещества толокнянки). В косметологии применяют отбеливающие свойства гидрохинона для устранения пигментации кожи [6]. Это фенольное соединение служит исходным веществом в синтезе многих лекарственных средств, например, этамзилата – лекарственного препарата, обладающего кровоостанавливающей активностью, ангиопротекторными и антиоксидантными свойствами [2]. Введение сульфогруппы в молекулу гидрохинона придает этому соединению новые фармакологические свойства и позволяет уменьшить его раздражающее действие и токсичность.

Целью настоящего исследования явилась оценка противовоспалительной активности новых производных гидрохинонсульфокислоты на модели острого воспаления «формалин-индуцированный отёк лапы» у мышей.

Материалы и методы исследования

Изучение противовоспалительной активности новых производных гидрохинонсульфокислоты проводили на модели «острый формалиновый отёк лапы» у мышей [6]. Эксперименты выполнены на 28 белых неинбредных мышцах обоего пола массой $20,2 \pm 0,4$ г. Подопытных животных содержали в условиях вивария (с естественным режимом освещения; при температуре 22–24 °; относительной влажности воздуха 40–50 %) с использованием стандартной диеты (ГОСТ Р 50258-92). Исследования проводили в соответствии с правилами качественной лабораторной практики (GLP) при проведении доклинических исследований в РФ [7], а также правилами и Международными рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1986) [4]. Перед постановкой эксперимента животные проходили карантин в течение 10–14 дней [9, 10].

Противовоспалительную активность производных гидрохинонсульфокислоты оценивали в экспериментах на модели «формалинового» отека лапы. Острый воспалительный отек вызывали субплантарным введением (под подошвенный апоневроз) в заднюю правую лапу мыши 0,1 мл 2 % водного раствора формалина. Выраженность отека оценивали, измеряя толщину лапки подопытного животного с помощью инженерного электронного штангенциркуля Vorel 15240 (Польша) до и через 2, 4, 6 часов, а также в динамике через 24 и 48 часов после введения раствора формалина. Противовоспалительную активность исследуемых соединений выражали в %% угнетения отека.

Исследовали действие двух новых производных гидрохинонсульфокислоты с лабораторными шифрами ЛХТ 5-10 и ЛХТ 8-10, синтезированных в ОАО «Всероссийский центр по изучению безопасности биологически активных веществ» (ВНЦ БАВ, Россия, Старая Купавна). Перед введением исследуемые вещества разводили в изотоническом растворе натрия хлорида и вводили внутривнутрибрюшинно в терапевтической дозе равной $1/20$ LD₅₀ (70 мг/кг). Значение LD₅₀ рассчитывали по данным токсикологических исследований. Оценку острой токсичности новых производных гидрохинонсульфокислоты при их однократном внутривнутрибрюшинном введении мышам проводили методом Прозоровского В. Б., Прозоровской М. П. (1980) [8]. Препарат сравнения этамзилат вводили внутривнутрибрюшинно в дозе 70 мг/кг.

Подопытные животные были разделены на 4 группы (по 7 мышей в каждой): 1) мыши, получавшие внутривентриально ЛХТ 5-10 в дозе 70 мг/кг до введения формалина, 2) мыши, получавшие внутривентриально ЛХТ 8-10 в дозе 70 мг/кг до введения формалина, 3) мыши, получавшие внутривентриально этамзилат в дозе 70 мг/кг до введения формалина, 4) мыши контрольной группы, получавшие внутривентриально изотонический раствор натрия хлорида.

Результаты исследования обработаны статистически с применением стандартного пакета программ MicrosoftOfficeExcel 2003. Для ряда выборок вычисляли среднюю арифметическую и среднюю квадратическую ошибку. Определение нормальности распределения переменных проводили на основании гистограмм распределения, величины асимметрии и эксцесса. Для оценки достоверности различий выборок, имеющих нормальное распределение, применяли параметрический t-критерий Стьюдента. За достоверное принимали различие при уровне вероятности 95 % и более ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение

Было выявлено, что при субплантарном введении 0,1 мл 2 % раствора формалина у подопытных мышей развивается выраженный отек лапы, о чем свидетельствует достоверное увеличение ее объема. Отмечено, что максимальный отёк лапки (пик воспаления) развивался через 4 часа после введения формалина, при этом объем лапы у подопытных животных контрольной группы увеличивался в среднем на 52,1 % ($p < 0,05$). Следует отметить, что и через 48 часов после введения формалина объем лапы у подопытных животных контрольной группы был в среднем в 1,3 раза (28,6 %) больше, чем до введения флогогенного фактора.

Анализ результатов экспериментального исследования показал, что среди производных гидрохинонсульфокислоты имеются соединения с противовоспалительной активностью. Так, было выявлено, что этамзилат и новые производные гидрохинонсульфокислоты под лабораторными шифрами ЛХТ 5-10, ЛХТ 8-10 обладают способностью уменьшать выраженность острого экссудативного воспаления лапки у мышей (таблица 1).

Таблица 1. Влияние производных гидрохинонсульфокислоты на выраженность «формалинового» отека лапы у мышей

Серияопыт а	Толщина лапы у подопытных мышей до и после введения формалина, мм					
	До опыта	2 часа	4 часа	6 часов	24 часа	48 часов

ЛХТ 5-10	2,49±0,11	2,80±0,08*	2,55±0,09	2,63±0,14	2,60±0,15	2,43±0,06
ЛХТ 8-10	2,49±0,05	3,08±0,14*	2,75±0,07*	2,74±0,13*	2,84±0,12*	2,63±0,09
этамзилат	2,44±0,15	3,26±0,12*	3,03±0,10*	2,97±0,14*	2,88±0,13*	2,52±0,09
Ир NaCl	2,17±0,07	3,06±0,20*	3,30±0,08*	3,08±0,16*	2,95±0,12*	2,79±0,17*

Примечание: * – различия с контролем (до опыта) достоверны ($p < 0,05$).

Результаты изучения противовоспалительной активности свидетельствуют, что среди изученных веществ наиболее активным оказалось вещество с лабораторным шифром ЛХТ 5-10, которое в дозе 70 мг/кг вызывало уменьшение объема лапки у мышей в среднем на 49,7 % ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой (рис.1).

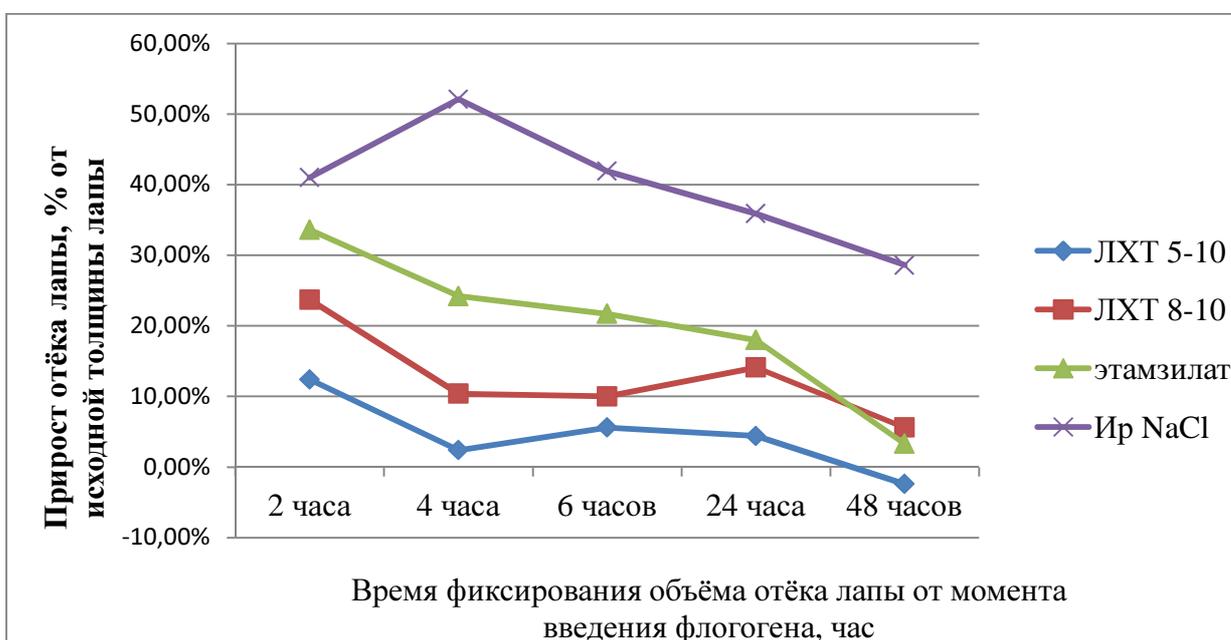


Рис. 1. Прирост отёка лапы у подопытных мышей после введения формалина, % от исходной толщины лапы

Исследование также показало, что соединение ЛХТ 5–10 проявляет антиэкссудативный эффект, который отмечен через 2, 4, 6 часов от начала эксперимента, а также через 24 и 48 часов после введения формалина и превосходит по силе эффекта и скорости его развития таковой у соединения ЛХТ 8–10 и препарата сравнения этамзилата.

Введение подопытным животным вещества под лабораторным шифром ЛХТ 8–10 в дозе 70 мг/кг снижало прирост объёма отека на 41,7 % ($p < 0,05$) по сравнению с животными контрольной группы. При этом антиэкссудативный эффект в этой группе мышей был зарегистрирован на 2 часа позже, чем у животных, которым вводили соединение ЛХТ 5-10.

Препарат сравнения этамзилат также препятствовал развитию воспалительной реакции, уменьшая прирост отека на 27,9 % ($p < 0,05$), что в среднем в 1,8 раза ($p < 0,05$) меньше, чем в группе животных, получивших ЛХТ 5–10, а также в среднем в 1,5 раза ($p < 0,05$) меньше, чем в группе животных, которым вводили ЛХТ 8–10.

Уменьшение признаков острого экссудативного воспаления в группе мышей, которые получали этамзилат, было отмечено через 4 часа после введения формалина.

Таким образом, результаты экспериментального исследования показали, что среди производных гидрохинонсульфо кислоты имеются соединения, обладающие противовоспалительной активностью. Возможно, что противовоспалительные свойства новых производных гидрохинонсульфо кислоты с лабораторными шифрами ЛХТ 5–10 и ЛХТ 8–10 связаны с их антиоксидантными свойствами, обусловленными наличием в их химической структуре гидрохинона. Известно, что подобного рода активность выявлена и у других антиоксидантов, в том числе производных 3-оксипиридина.

Следует отметить также, что антиэкссудативной активностью обладали не только новые производные гидрохинонсульфо кислоты ЛХТ 5–10 и ЛХТ 8–10, но и гемостатик и ангиопротектор этамзилат, обладающий сходной химической.

Полученные результаты позволяют рекомендовать исследуемые соединения с лабораторными шифрами ЛХТ 5–10 и ЛХТ 8–10 для расширенных доклинических испытаний потенциальных лекарственных средств с антиоксидантной и противовоспалительной активностью.

Выводы

1. Среди производных гидрохинонсульфо кислоты имеются соединения с противовоспалительной активностью.
2. Новые производные гидрохинонсульфо кислоты с лабораторными шифрами ЛХТ 5–10 и ЛХТ 8–10 при внутрибрюшинном введении в дозе 70 мг/кг (1/20 LD₅₀) уменьшают выраженность формалинового отека лапы у мышей соответственно на 49,7 % и 41,7 %.
3. Противовоспалительная активность ЛХТ 5–10 и ЛХТ 8–10 была соответственно в среднем в 1,8 раза и 1,5 раза соответственно ($p < 0,05$) выше, чем у этамзилата.

Список литературы

1. Валеева И. Х., Зиганшина Л. Е., Хазиахметова В. Н., Титаренко А. Ф. Димефосфон проявляет противовоспалительную и антиоксидантную активность на модели хронического аутоиммунного воспаления // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2011, № 3. – С.13-16.

2. Гусев Е. И., Скворцова В. И. Современные представления о лечении острого церебрального инсульта // Consiliummedicum. – 2000. – Т.2, №2. – С. 60-65.

3. Демидова М. А., Скачилова С. Я., Судакова О. А. Исследование противоаллергической активности новых производных гидрохинонсульфоуксидной кислоты // Врач-аспирант. – 2011. – №6.1(49). – С.163-168.

4. Европейская конвенция «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях». – 1986 [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.lawmix.ru/abro.php?id=11036> (дата обращения: 16.10.2011).

5. Еремеев С. А. Молекулярные механизмы превращения митотропных хинонов ряда Skq и поиск путей создания избирательно действующих "ловушек" свободных радикалов [Text] // Биохимия. – 2009. – Том 74, № 10. – С. 1368-1379.

6. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению новых нестероидных противовоспалительных препаратов // Ведомости Научного центра экспертизы и государственного контроля лекарственных средств. – 2000. – №1. – С.44-51.

7. Об утверждении Правил лабораторной практики: Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23 августа 2010 г. N 708н: зарегистр. в Минюсте Рос. Федерации 13 октября 2010 г. N 18713 // Рос.газ. – 2010. – 22 октября.

8. Прозоровский В. Б., Прозоровская М. П. Табличный метод определения ЕД50 (DL50) веществ с низкой биологической активностью //Фармакология и токсикология. – 1980. – № 6. – С. 733-735.

9. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ /Под общей редакцией чл.-корр. РАМН проф. Р. У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.

10. Сернов Л. Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л. Н. Сернов, В. В. Гацура. – М.: ВНИЦ БАВ, 2000. – 352 с.

Рецензенты:

Филиппова О.В., д.м.н., профессор кафедры фармации последипломного образования Воронежского государственного университета, г. Воронеж.

Сернов Л. Н., д.м.н, профессор, генеральный директор ООО "Фарм-С", г. Москва.