

УДК: 615.015.11: 615.261.1: 615.032

## ПРОТИЗАПАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ЕСТЕРІВ ІБУПРОФЕНУ НА МОДЕЛЯХ ТРИПСИНОВОГО ТА ГІСТАМІНОВОГО ЗАПАЛЕННЯ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ

**Кравченко І.А., Гайзель М.В.**

*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса,  
kiryeva.m.v@gmail.com*

Досліджено протизапальну активність естерів ібупрофену на моделі трипсिन-ного та гістамінового запалення задньої кінцівки щурів. Гостру запальну реакцію викликали субплантарним введенням 0,1 мл 0,1 % розчину флогогену (трипсину, гістаміну). Спостереження за функціональним станом тварин проводили протягом 6 годин після введення флогогенного агента. Як протизапальні агенти використовували метиловий, гептиловий, октиловий, тетрадециловий і гексадециловий естери ібупрофену, а також ібупрофен, як референт препарат. Для порівняння використовували показники “контрольних” груп, яким трипсинове і гістамінове запалення не лікували. Визначення протизапальної активності базувалося на встановленні динаміки ширини та об’єму уражених кінцівок щурів.

**Ключові слова:** протизапальна активність, естери ібупрофену, трипсинове запалення, гістамінове запалення, пероральне введення.

### Вступ

Запалення — захисна реакція на дію шкідливих чинників, яка являє собою комплекс змін в органах та тканинах та є динамічним процесом, який розвивається у відповідь на вплив пошкоджуючого фактора та обумовлений реакцією клітин і тканин, яка визначається загальною реактивністю організму, що регулюється нервово-гуморальними механізмами [1, 2]. Цей процес лежить в основі різних захворювань.

Захисна реакція організму, яка направлена на елімінацію патогенного чинника із організму, сприяє обмеженню осередку пошкодження, але в ряді випадків може призвести до пошкодження тканин. Такий процес може стати причиною стійкого зниження або втрати їх функції [3, 4, 5].

НПЗЗ займають чи не перше місце на фармацевтичному ринку при лікуванні запалень різної етіології, найпоширеним серед яких в застосуванні є ібупрофен. Саме тому актуальним є створення похідних на основі ібупрофену, яким було би притаманно збільшен-

ня часу утримання активної молекули в організмі як за рахунок збільшення ліпофільності, так і за рахунок повільного гідролізу, який призводить до пролонгованості дії.

### Матеріали та методи дослідження

В роботі використовувалися білі безпородні щури, масою 180-200 г, отримані з віварію Одеського національного медичного університету. Під час досліду тварини утримувались в умовах віварію на стандартному раціоні при вільному доступі до води та їжі. Усі дослідження відповідали правилам “Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях” [6] (Страсбург, 1986) і принципам Національного конгресу України з біоетики (Київ, 2003) [7].

Для відтворення гострого запалення задньої кінцівки щурів використовували трипсин та гістамін. В даний час трипсиноподібні протеїнази розглядають як одні з ключових модуляторів біологічних функцій клітини. Роль протеїназ як сигнальних молекул полягає у спе-

цифічній регуляції метаболізму клітини через активацію протеїназ-активуючих рецепторів (PARs) зв'язаних з G-білками, які передають сигнал всередину клітини, що призводить до швидкої транскрипції генів медіаторів запалення. Активація даного типу рецептору являється одним із факторів розвитку артрального запалення [8, 9]. Гістамін, як один із медіаторів запалення, розширює капіляри і збільшує їх проникність, що супроводжується набряком і міграцією лейкоцитів в тканини. Він також бере участь в ряді біохімічних реакцій, які відповідають за розвиток процесу запалення [10].

Запальну реакцію викликали субплантарним (під плантарний апоневроз) введенням 0,1 мл 0,1 % водного розчину флогогену [11]. Спостереження за функціональним станом тварин проводили протягом 6 годин після введення флогогенного агенту. Як протизапальні агенти використовували метиловий, гептиловий, октиловий, тетрадеканіловий та гексадециловий естери ібупрофену, а також ібупрофен, як референт-препарат. Для порівняння використовували показники «контрольних» груп, яким трипсинове та гістамінове запалення не лікували.

Ібупрофен та його естери вводили інтрагастрально за 30 хв до введення флогогенного агенту. Доза ібупрофену складала 15 мг/кг. Дозу естерів розраховували в молярному перерахунку на активну речовину (ібупрофен).

В експерименті було використано 7 груп по 4 щура у кожній для кожної моделі запалення. Перша 6 «контроль» (індуковане запалення без лікування). Ібупрофен та його естери вводили перорально групам 2-7, відповідно.

Визначення протизапальної активності базувалося на встановленні динаміки ширини та об'єму уражених кінцівок дослідних груп щурів на тлі процесу запалення. Ширину кінцівки вимірювали електронним штангенциркулем УТ-

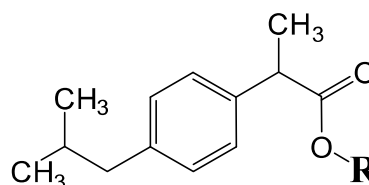
7201, фірми YATO, Польща, зміну об'єму кінцівки визначали за допомогою цифрового плетизмометра 37140, Ugo Basile, Китай.

Отримані експериментальні дані статистично оброблялися загальноприйнятими методами з використанням значень середньої арифметичної величини (M), середнього відхилення середньої арифметичної величини (m), критерію Стьюдента та коефіцієнта достовірності P.

### Результати дослідження та їх обговорення

Використання методу вимірювання ширини та об'єму набряку в місці введення флогогенного агента дозволяє оцінювати як загальну запальну реакцію, так і вплив протизапального препарату безпосередньо на місце введення трипсину та гістаміну.

Для лікування нами було використано референт-препарат — ібупрофен (I) та 6 його естерів: метиловий (II), гептиловий (III), октиловий (IV), тетрадециловий (V) та гексадециловий (VI).



-R: I — -H; II — -CH<sub>3</sub>; III — -C<sub>7</sub>H<sub>17</sub>; IV — -C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>; V — -C<sub>14</sub>H<sub>29</sub>; VI — -C<sub>16</sub>H<sub>33</sub>.

Після введення флогогенного агенту реакція запалення розвивається протягом перших 30 хв, як для контрольної, так і для груп, яких лікували ібупрофеном та його естерами.

Ці естери було обрано з метою вивчення впливу довжини аліфатичного ланцюга на терапевтичну активність естеру.

На рис. 1 представлені дані щодо зміни ширини набряку уражених кінцівок щурів при пероральному введенні дослідних естерів на моделі трипсин-індукованого запалення. Пік процесу запален-

ня сягае через годину після введення трипсину. Лікування запалення метиловим, гептиловим та октиловим естерами ібупрофену показує кращий результат у порівнянні з ібупрофеном протягом шести годин експерименту. Дія тетрадецилового та гексадецилового естерів ібупрофену починаючи з другої години призводить до помітного зниження ширини уражених кінцівок. Вже на шосту годину показники ширини двох останніх груп майже досягають інтакт-

них показників.

Оцінюючи показники об'єму уражених кінцівок (рис. 2) на моделі трипсинового запалення, спостерігаємо, що лікування тварин впливає на процес запалення і вже через 1,5 год після введення флогогену об'єм уражених кінцівок починає зменшуватися. Пік процесу запалення для груп, які піддавалися лікуванню ібупрофеном та його естерами сягає через годину, в той час як для контрольної грипи пік процесу запалення сягає через 2

години після введення флогогенного агенту. На шосту годину експерименту показники групи, яку лікували гексадециловим естером досягли інтактних показників та майже досягли показників групи, яку лікували гептиловим естером ібупрофену.

На моделі гістамінового запалення спостерігаємо аналогічну картину динаміки зміни ширини уражених кінцівок дослідних тварин (табл. 1). Запалення сягає максимального значення через 0,5 години після введення флогогену (гістаміну). Ібупрофен та його естери пригнічують процес запалення, останні не поступаються протизапальній та протинабряковій активності препарату порівняння. Довголанцюгові естери

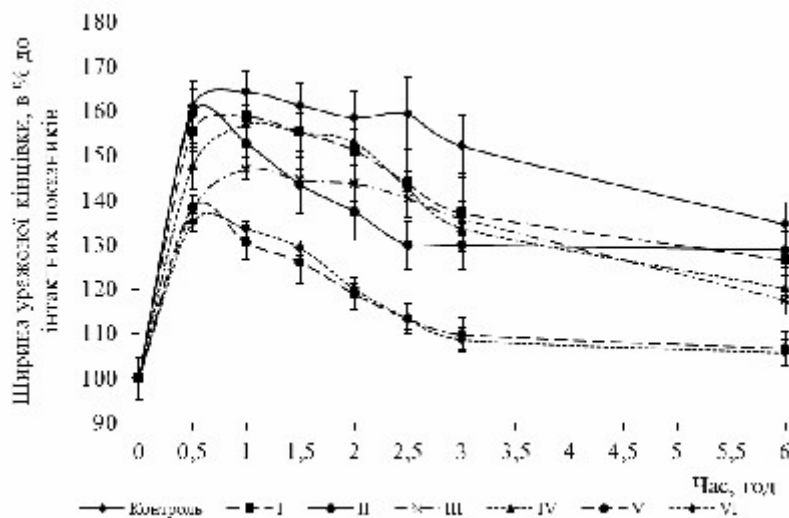


Рис. 1. Показники динаміки зміни ширини ураженої кінцівки щурів на моделі трипсин-індукованого запалення за умов лікування естерами ібупрофену (I-VI), в % до інтактних, (M ± m) (n = 10)

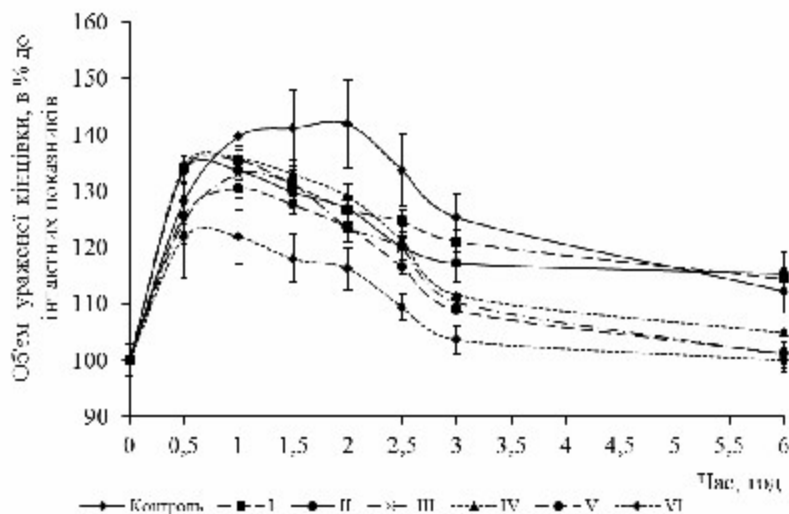


Рис. 2. Показники динаміки зміни об'єму ураженої кінцівки щурів на моделі трипсин-індукованого запалення за умов лікування естерами ібупрофену, в % до інтактних, (M ± m) (n = 10)

тетрадециловий та гексадециловий за рахунок повільного гідролізу попереджують розвиток запалення на 20-25 % у порівнянні з референт-препаратом та на 30-35 % у порівнянні з контрольною групою, відповідно.

В табл. 2 представлені результати вимірювань об'єму уражених кінцівок щурів при гістаміновому запаленні. Пік процесу запалення для дослідних груп, які піддавалися лікуванню сягає через 30 хв. з моменту введення флогогену, окрім групи, яку лікували метиловим естером ібупрофену та контрольною групи яка не піддавалася лікуванню — пік процесу запалення спостерігався через годину після введення флогогенного агенту. Через 1,5 г спостерігаємо, що лікування запалення ібупрофеном та його естерами призводить до швидшого зниження показників об'єму уражених кінцівок, у порівнянні з показниками контрольною групи.

### Висновки

Таким чином, при проведенні фармакологічних досліджень була виявлена протизапальна та протинабрякова дія метилового, гептилового, октилового, тетрадецилового та гексадецилового естерів ібупрофену.

Таблиця 1

Показники динаміки зміни ширини ураженої кінцівки щурів на моделі гістамін-індукованого запалення за умов лікування естерами ібупрофену, в % до інтактних, (M ± m, n = 10)

Час, год	Контроль (Група 1)	Сполуки					
		I (Група 2)	II (Група 3)	III (Група 4)	IV (Група 5)	V (Група 6)	VI (Група 7)
0		100,0 ± 3,91					
0,5	156,50 ± 2,62	157,36 ± 2,5	149,30 ± 6,12	160,36 ± 4,84	157,28 ± 3,28	136,06 ± 1,08	139,45 ± 4,71
1	155,08 ± 5,91	155,58 ± 5,73	144,24 ± 4,21	146,40 ± 5,63	151,62 ± 3,87	136,05 ± 2,26	135,31 ± 3,07
1,5	148,64 ± 3,82	145,67 ± 5,32	136,81 ± 3,23	137,68 ± 4,62	148,06 ± 4,12	133,74 ± 2,68	136,16 ± 5,39
2	146,91 ± 3,89	138,29 ± 6,87	135,57 ± 5,78	133,98 ± 3,76	144,80 ± 3,12	126,71 ± 1,73	133,78 ± 3,78
2,5	142,05 ± 4,75	135,34 ± 8,43	130,36 ± 6,87	126,95 ± 1,19	141,85 ± 5,05	126,59 ± 3,23	128,44 ± 2,64
3	140,33 ± 4,85	131,74 ± 7,73	129,86 ± 6,31	127,09 ± 0,88	140,90 ± 3,32	120,72 ± 2,26	127,48 ± 1,57
6	132,42 ± 5,77	130,36 ± 6,72	110,42 ± 5,39	121,64 ± 1,55	126,23 ± 4,01	111,45 ± 2,74	118,88 ± 1,17

Таблиця 2

Показники динаміки зміни об'єму ураженої кінцівки щурів на моделі гістамін-індукованого запалення за умов лікування естерами ібупрофену, в % до інтактних, (M ± m, n = 10)

Час, год	Контроль (Група 1)	Сполуки					
		I (Група 2)	II (Група 3)	III (Група 4)	IV (Група 5)	V (Група 6)	VI (Група 7)
0		100,0 ± 2,98					
0,5	146,90 ± 4,23	154,47 ± 7,76	138,12 ± 4,44	137,41 ± 5,11	141,26 ± 3,81	134,79 ± 1,23	133,94 ± 5,00
1	161,28 ± 6,21	150,71 ± 6,6	142,34 ± 6,14	134,74 ± 5,57	123,67 ± 2,92	125,04 ± 5,1	130,73 ± 6,41
1,5	150,96 ± 5,67	134,93 ± 3,41	139,91 ± 7,55	116,32 ± 2,24	119,47 ± 3,08	117,54 ± 2,53	123,87 ± 4,9
2	126,45 ± 6,81	124,54 ± 4,88	120,10 ± 3,03	114,24 ± 1,69	116,44 ± 1,55	109,34 ± 1,62	121,30 ± 6,22
2,5	115,34 ± 7,41	115,47 ± 4,65	112,27 ± 2,29	111,23 ± 1,63	116,44 ± 1,55	109,28 ± 1,78	112,00 ± 2,57
3	115,35 ± 7,43	113,76 ± 4,38	109,67 ± 3,97	106,25 ± 1,98	111,81 ± 2,92	110,57 ± 1,21	108,72 ± 2,89
6	111,25 ± 4,91	107,32 ± 3,27	100,91 ± 3,32	104,69 ± 0,7	112,12 ± 5,42	106,07 ± 1,1	108,03 ± 2,94

Було показано, що застосування естерів ібупрофену на прикладі трипсинового та гістамінового запалення обумовлює кращий протизапальний ефект у порівнянні з ібупрофеном при визначенні ширини та об'єму уражених кінцівок щурів. Найбільш виражена протизапальна та протинабрякова активність притаманна довголанцюговим гексадециловому та тетрадециловому естерам ібупрофену, що свідчить про те, що вони не є класичними проліками та мають власну фармакологічну активність.

**Література**

1. Альперн Д.Е. Медиаторы воспаления / Д.Е. Альперн, Р.У Липшиц // Арх. патологии. – 1966. – № 4. – С. 3–13.
2. Улащик В.С. Влияние физических факторов на морфофункциональное состояние клеточных структур / В.С. Улащик, О.Н. Тимошенко // Вопр. курортол. – 2006. – №6. – С.48–52.
3. Felson D.T. Choosing a core set of disease activity measures for rheumatoid arthritis clinical trials / D.T. Felson // J Rheumatol. – 1993. – V.20 (3). – P.531-4.
4. Anderson J.J. Factors predicting response to treatment in rheumatoid arthritis: the importance of disease duration / J.J. Anderson, G. Wells, A.C. Verhoeven, D.T. Felson // Arthritis Rheum. – 2000. – 43(1). – P.22-9.
5. Серов В.В. Воспаление. Руководство для врачей / В.В. Серов, В.С. Пауков. – М.: Медицина. – 1995. – 640 с.
6. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Strasbourg: Council of Europe. – 1986. – № 123. – 51 p.
7. General ethical principles of experiments on animal // Endocrinol. – 2003. – V. 8, № 1. – P. 142–145.
8. Chen T.-L., Lin Y.-F., Cheng C.-W. Anti-inflammatory mechanism of proteinase-activated receptor 2-inhibiting peptide in human synovial cell // J. Biomed. Sci. – 2011. – 18. – doi: 10.1186/1423-0127-18-43.
9. О. Харченко. Вміст трипсиноподібних ферментів і молекул середньої маси плазми крові як потенційні маркери хронічної алкогольної інтоксикації. // Біологія. – 2014. – 3(68). – С. 61-64.
10. Атаман О.В. Патолофізіологія / О.В. Атаман. – Вінниця: Нова книга, 2007. – 512 с.
11. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації / О.В. Стефанов. – К.: МОЗ України. Державний фармакологічний центр. – 2001. – 527 с.
12. lar structures / V.S. Ulaschik, O.N. Timoshenko // Vopr. kurortol. – 2006. – №6. – P. 48–52.
13. Felson D.T. Choosing a core set of disease activity measures for rheumatoid arthritis clinical trials / D.T. Felson // J Rheumatol. – 1993. – V.20 (3). – P.531-4.
14. Anderson J.J. Factors predicting response to treatment in rheumatoid arthritis: the importance of disease duration / J.J. Anderson, G. Wells, A.C. Verhoeven, D.T. Felson // Arthritis Rheum. – 2000. – 43 (1). – P.22-9.
15. Serov V.V. Inflammation. A guide for doctors / V.V. Serov, V.S. Paukov. – M.: Medicine. – 1995. – 640 p.
16. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Strasbourg: Council of Europe. – 1986. – № 123. – 51 p.
17. General ethical principles of experiments on animal // Endocrinol. – 2003. – V. 8, № 1. – P. 142–145.
18. Chen T.-L., Lin Y.-F., Cheng C.-W. Anti-inflammatory mechanism of proteinase-activated receptor 2-inhibiting peptide in human synovial cell // J. Biomed. Sci. – 2011. – 18. – doi: 10.1186/1423-0127-18-43.
19. A Kharchenko. The content of trypsin-like enzymes and molecules of average weight blood plasma as potential markers of chronic alcohol intoxication // Biology. – 2014. – 3 (68). – P. 61-64.
20. Ataman O.V. Pathophysiology / O.V. Ataman. – Vinnytsa: Nova knyga. – 2007. – 512 p.
21. Stefanov O.V. Preclinical testing of medicines. Guidelines / O.V. Stefanov. – K.: The Ministry of health of Ukraine. State pharmacological center. – 2001. – 527 p.

**Резюме**

**ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ ИБУПРОФЕНА НА МОДЕЛЯХ ТРИПСИНОВОГО И ГИСТАМИНОВОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ**

*Кравченко И.А., Гайзель М.В.*

Исследована противовоспалительная активность сложных эфиров ибупрофена на модели трипсинового и гистаминового воспаления задней конечности крыс. Острую воспалительную

реакцию вызывали субплантарным введением 0,1 мл 0,1 % раствора флогогена (трипсина, гистамина). Наблюдение за функциональным состоянием животных проводили на протяжении 6 часов с момента введения флогогенного агента. Как противовоспалительные агенты использовали метиловый, гептиловый, октиловый, тетрадециловый и гексадециловый эфиры ибупрофена, а также ибупрофен, как референт препарат. Для сравнения использовали показатели “контрольных” групп, которым трипсиновое и гистаминовое воспаление не лечили. Определение противовоспалительной активности базировалось на установлении динамики ширины и объема пораженных конечностей крыс.

**Ключевые слова:** *противовоспалительная активность, сложные эфиры ибупрофена, трипсиновое воспаление, гистаминовое воспаление, пероральное введение.*

*Впервые поступила в редакцию 07.06.2016 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

### Summary

#### ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF IBUPROFEN ESTERS ON MODELS OF THE TRYPsin AND HISTAMINE INDUCED PAW EDEMA BY ORAL ADMINISTRATION

*Kravchenko I.A., Gayzel M.V.*

Was investigated anti-inflammatory activity of ibuprofen esters on the model of trypsin and histamine inflammation. Acute inflammatory response caused subcutaneous of 0,1 ml of a 0.1 % solution of inflammatory agents (trypsin, histamine). Monitoring of functional state of animals was performed during 6 hours since the administration of inflammatory agent. As anti-inflammatory agents we used methyl, heptyl, octyl, tetradecyl and hexadecyl esters of ibuprofen, and ibuprofen as the reference drug. Determination of anti-inflammatory activity was based on establishing the dynamics of the width and volume of the affected limbs of rats.

**Keywords:** *anti-inflammatory activity, esters of ibuprofen, trypsin inflammation, histamine inflammation, oral administration.*