

# ИССЛЕДОВАНИЕ ЖАРОПОНИЖАЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

С. В. Лисина, А. К. Брель, Л. С. Мазанова, А. А. Спасов

Кафедра химии, кафедра фармакологии ВолГМУ

Синтезированы новые производные салициловой и ацетилсалициловой кислот. Исследованы их жаропонижающая активность и токсичность. Некоторые новые производные имеют выраженную жаропонижающую активность при низкой токсичности.

**Ключевые слова:** салициловая кислота, аспирин, ацетилсалициловая кислота, жаропонижающая активность, LD<sub>50</sub>.

## INVESTIGATION OF ANTI-PYRETIC ACTIVITY OF NEW DERIVATIVES OF SALICYLIC ACID

S. V. Lisina, A. K. Brel, L. S. Mazanova, A. A. Spasov

**Abstract.** New derivatives of salicylic acid were synthesized by esterification and nucleophilic substitution reactions. These derivatives were tested for anti-pyretic activity and toxicity. Some of them demonstrated a high anti-fever activity and low toxicity.

**Key words:** salicylic acid, aspirin, acetylsalicylic acid, anti-pyretic activity, LD<sub>50</sub>.

Производные орто-оксибензойной кислоты (салицилаты) вошли в клиническую практику с 1876 г. и повсеместно применяются до настоящего времени. Одним из таких препаратов салициловой кислоты (СК) является аспирин (ацетилсалициловая кислота) [1]. СК и ее производные представляют особый интерес в плане поиска новых обезболивающих, жаропонижающих, антисептических и противовоспалительных средств. Синтез новых производных путем фосфорилирования, алкилирования СК и ее производных эпоксидами, спиртами и галогеналкилами позволит получить лекарственные препараты с более широким фармакологическим эффектом и ослабленным побочным действием.

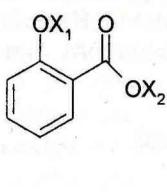
Противовоспалительное, жаропонижающее и анальгезирующее действие связано с неизбирательным торможением активности циклооксигеназ, регулирующих синтез простагландинов [1]. В результате не образуются простагландины, обеспечивающие формирование отека и гиперальгезии. Снижение содержания простагландинов в центре терморегуляции приводит к снижению температуры тела вследствие расширения сосудов кожи и возрастания потоотделения. Следует отметить, что жаропонижающий эффект салицилатов проявляется только при лихорадке, на нормальную температуру тела салицилаты не влияют. Ацетилсалициловая кислота (ACK) – пролекарство, в организме разлагается с образованием СК [2].

Из особенностей физиологического действия салицилатов важно отметить и другие эффекты, например такие как: гипогликемизирую-

щий – позволяющий назначать их больным сахарным диабетом, отсутствие задержки жидкости, прямое стимулирование дыхательного центра и, наконец, понижение наклонности к тромбообразованию в связи с торможением агрегации тромбоцитов и некоторым уменьшением синтеза протромбина под влиянием ACK [3].

Однако салицилаты имеют побочные действия: гастралгия (или гастропатия), коагулопатия, нарушение функции почек и/или печени как результат сужения сосудов и ухудшения кровотока из-за блокады синтеза простагландина E2 и простациклина, обострение бронхиальной астмы по причине бронхоспазма за счет снижения простагландина E2 и увеличения продукции лимфоцитов, аллергические реакции (кожная сыпь, ангионевротический отек, бронхоспазм), тромбоцитопения, анемия, лейкопения, синдром Рейе (энцефалопатия и острые жировая дистрофия печени с быстрым развитием печеночной недостаточности), формирование на основе галтенового механизма "аспириновой астмы" и "аспириновой триады" (сочетание бронхиальной астмы, рецидивирующего полипоза носа и околоносовых пазух и непереносимости ACK) [2].

Нами были получены новые производные СК и аспирина, являющиеся жирорастворимыми соединениями, которые испытывались на жаропонижающую активность. Кроме такой активности, изучалась острые токсичность следующих наиболее активных соединений: бутилсалицилата (I), диметил-β-(O-салицилоил)этилfosфоната (VI), аллилового эфира ACK (VII).

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ**

Исследовать жаропонижающую активность новых производных салициловой кислоты.

**МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ**

Соединения I–VI получены методом этерификации СК алифатическими и фосфорсодержащими спиртами [5]. К смеси СК и соответствующего спирта медленно, при встряхивании прибавляют концентрированную серную кислоту (или пара-толуолсульфокислоты). Затем смесь нагревают 6–8 ч. Избыток спирта отгоняют, остаток промывают водой. Органический слой еще раз обрабатывают водой, концентрированным раствором  $\text{K}_2\text{CO}_3$  до щелочной реакции и вновь водой. Продукт сушат над безводным  $\text{MgSO}_4$ , фильтруют, перегоняют. При получении соеди-

нения I в качестве катализаторов применялась серная кислота, пара-толуолсульфокислота или ионообменная смола ( $\text{H}^+$  КУ-2), изучено влияние катализатора на выход продукта.

Соединение VII получено методом взаимодействия галогенида с АСК в присутствии  $\text{K}_2\text{CO}_3$  в среде растворителя. Смесь АСК, аллилбромида, высшенного  $\text{K}_2\text{CO}_3$  и безводного ДМФА кипятят 8 ч. Затем добавляют 40 мл воды и экстрагируют эфиром. После отгонки растворителя технический продукт перегоняют (выход VII – 68,4 %).

Соединение VIII получено реакцией эпоксидирования VII пероксидом водорода в щелочной среде [5]. К раствору аллилсалацилата, 35 %-го пероксида водорода в 20,0 мл этианола, охлажденному до 15 °C, при капывают 6 М гидроксида натрия, поддерживая температуру 15–20 °C. По окончании прибавления смесь перемешивают 3 ч при 20–25 °C, затем промывают  $\text{H}_2\text{O}$  и экстрагируют эфиром. Эфирную фазу промывают водой, 3 %-м KI и высушивают над  $\text{MgSO}_4$ . Остаток после отгонки эфира перегоняют (выход VIII – 36,2 %).

Для подтверждения строения синтезированных соединений были изучены ЯМР-спектры (табл. 1).

Таблица 1

## Характеристика новых синтезированных соединений производных СК и АСК

Соединение	Выход, %	Т.кип., °C (2–5 мм рт. ст.)	Брутто-формула	$n_D^{20}$	$d_4^{20}$	Химический сдвиг, δ, м. д.
I	70,2	126–130	$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_3$	1,5138	1,0253	6,70–7,78 м (4Н, фенилен), 4,35–4,46 д (2Н, $\text{O}-\text{CH}_2$ ), 1,52–1,64 м (4Н, $\text{CH}_2$ ), 0,92–1,00 м (3Н, $\text{CH}_3$ ), 11,19 с (1Н, Ar-OH)
II	42,8	98–100	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$	1,5220	1,1299	6,34–7,30 м (4Н, фенилен), 3,89–4,29 д (2Н, $\text{O}-\text{CH}_2$ ), 1,52–1,64 м (4Н, $\text{CH}_2$ ), 0,81–1,30 м (3Н, $\text{CH}_3$ ), 10,82 с (1Н, Ar-OH)
III	29,3	128–133	$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_3$	1,5101	1,0101	6,87–7,85 м (4Н, фенилен), 3,90–4,13 м (2Н, $\text{O}-\text{CH}_2$ ), 2,1 с (CH), 0,9–1,03 м (6Н, $\text{CH}_3$ ), 10,8 с (1Н, Ar-OH)
IV	57,7	145–147	$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_3$	1,5058	1,0728	6,92–8,00 м (4Н, фенилен), 3,9–4,2 д (2Н, $\text{O}-\text{CH}_2$ ), 1,38–1,76 м (6Н, $\text{CH}_2$ ), 0,81–0,93 м (3Н, $\text{CH}_3$ ), 10,35 с (1Н, Ar-OH)
V	31,3	180–182	$\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{O}_6\text{P}$	1,4910	1,1388	6,84–7,80 м (4Н, фенилен), 4,42–4,71 д (2Н, $\text{O}-\text{CH}_2$ ), 4,43–4,61 м (2Н, $\text{P}-\text{CH}_2$ ), 3,07–3,76 м (2Н, $\text{O}-\text{CH}$ ), 0,88–1,46 м (12Н, $\text{CH}_3$ ), 10,96 с (1Н, Ar-OH)
VI	43,1	178–179	$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{O}_6\text{P}$	1,4992	1,2311	6,92–8,04 м (4Н, фенилен), 4,34–4,47 м (2Н, $\text{O}-\text{CH}_2$ ), 2,25–2,46 м (2Н, $\text{P}-\text{CH}_2$ ), 3,64–3,74 т (6Н, $\text{O}-\text{CH}_3$ ), 11,02 с (1Н, Ar-OH)
VII	68,4	130–131	$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_4$	1,5145	1,1214	6,95–8,07 м (4Н, фенилен), 4,55–4,62 м (2Н, $\text{CH}_2$ ), 5,86–6,0 м (1Н, $\text{HC}=\text{C}$ ), 4,97–5,11 м (2Н, $\text{C}=\text{CH}_2$ ), 2,08 с (3Н, $\text{CH}_3$ )
VIII	36,2	102–105	$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_5$	1,5340	1,2411	6,95–7,93 м (4Н, фенилен), 3,97–4,15 м (2Н, $\text{CH}_2$ ), 2,84–3,04 д (2Н, $\text{O}-\text{CH}_2$ ), 3,86–3,89 м (1Н, $\text{HC}-\text{O}$ ), 2,26 с (3Н, $\text{CH}_3$ )

Спектры ЯМР  $\text{H}^1$  регистрировали на спектрометре "Tesla BS-567 A" (100 МГц) в растворах четыреххлористого углерода, ацетона- $D_6$ , внутренний стандарт – гексаметилдисилоксан. Для интерпретации спектров использовали лицензионный программный продукт фирмы "Advanced Chemistry Development Inc." (Торонто, Онтарио, Канада) под коммерческим названием "ACD/HNMR Predictor Pro v. 3.00". Чистоту и индивидуальность соединений подтверждали методом тонкослойной хроматографии на пластинах "Silufol UV-254".

Изучение жаропоникающих свойств новых химических соединений проводили в сравнении с АСК и СК, которые вводились в дозе 50 мг/кг в виде масляных растворов. Исследуемые соединения вводили в эквимолярных количествах по АСК. Лихорадочную реакцию вызывали подкожным введением 20 %-й суспензии пекарских дрожжей в дозе 1 мл/кг. Исследуемые соединения вводили через зонд внутригастрально на фоне максимального повышения температуры тела при экспериментальной лихорадочной реакции. Эксперименты проведены на 36 белых беспородных крысах-самках массой 200–230 г, случайным образом поделенных на экспериментальные и контрольные группы. В 2 контрольных группах было по 6 животных, в опытных – по 3. Опытных групп было 8. В каждой опытной группе животные получали новое синтезированное вещество на фоне развивающейся гипертермической реакции (через 18 часов после введения пирогена). Ректальную температуру измеряли цифровым электротермометром фирмы "OMRON" (Германия) до введения пирогена (исходная температура) и через 18 ч после введения пирогена, когда отмечали максимальное повышение температуры. По разнице этих измерений оценивали гипертермическую реакцию. Жаропоникающее действие оценивали по уменьшению гипертермической реакции через 2 ч после введения исследуемого вещества. Для уточнения длительности действия новых производных СК и АСК регистрировали динамику изменения температуры в течение 5 ч [4]. Результаты проведенных исследований подвергнуты статистической обработке, достоверность различий оценивали с помощью критерия Стьюдента.

Изучение острой токсичности новых производных СК и АСК изучалось на 40 белых мышах массой 16–18 г. Изучаемые вещества вводили в виде масляных растворов внутрижелудочно с помощью зонда. После однократного введения вещества за животными наблюдали в течение 2 недель; в первый день после введения животные находились под непрерывным наблюдением, в последующие дни наблюдения проводились утром и вечером. Внешний вид животных соответствовал норме, в поведенческих реакциях и двигательной активности мышей не было

отклонений [4]. Вещества исследовали в дозах от 1000 до 6000 мг/кг. При расчете LD<sub>50</sub> использовали классический метод Литчфилда и Вилкоксона [4] с использованием регрессионного анализа (Microsoft Excel).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На основании проведенных исследований установлено, что все испытанные соединения оказывают жаропоникающее действие различной степени выраженности и длительности.

Через 2 ч после введения вещества I температура тела крыс понизилась на 1,1 °C, т. е. по жаропоникающей активности вещество I через 2 ч после введения по эффекту равно СК (-1,04 °C) и несколько превосходило АСК (-0,78 °C, табл. 1). Через 3 и 4 ч после введения жаропоникающее действие вещества I усиливалось, температура снижалась на 1,37 °C через 3 ч и на 1,33 °C через 4 ч, что составляло 3,48 и 3,38 % относительно температуры тела животных на фоне гипертермической реакции. Через 5 ч температура оставалась сниженной на 1,07 °C, что составляло 2,71 % относительно температуры тела животных на фоне развивающейся гипертермии.

Таблица 2

Влияние новых производных СК и АСК на температуру тела животных с экспериментальной гипертермией

Вещества	Гипотермическая реакция, Δ °C			
	2 часа	3 часа	4 часа	5 часов
СК	-1,04*	-0,68*	-0,64*	-0,6*
АСК	-0,78*	-0,65*	-0,67*	-0,83*
I	-1,1*	-1,37*	-1,33*	-1,07*
II	-0,27	0,03	-0,43	-0,2
III	-0,37	-0,37	-0,27	-0,27
IV	-0,77*	-0,23	-0,43	-0,38
V	-1,03*	-0,9*	-0,83*	-0,4
VI	-1,47*	-1,27*	-1,03*	-0,93*
VII	-0,80	-1,85*	-1,73*	-1,53*
VIII	-0,87	-0,97*	-0,87*	-0,63*

\* – достоверно при  $p < 0,05$ .

При изучении жаропоникающей активности вещества VI температура тела через 2 ч после введения снижалась на 1,47 °C (табл. 2), что составляло 3,72 % относительно температуры тела животных на фоне развивающейся гипертермии и по эффективности превосходило СК и АСК. При последующем наблюдении за животными в течение 5 ч температура тела под воздействием изучаемого вещества постепенно снижалась, но разница показателей температуры относи-

тельно исходного состояния при гипертермической реакции была выше, чем под воздействием СК и АСК.

Под воздействием вещества V температура тела через 2 ч после введения достоверно снижалась на 1,03 °C, что составляло 2,69 % относительно температуры тела животных на фоне гипертермической реакции и по эффективности соответствовало салициловой кислоте. При последующем наблюдении температура тела восстанавливалась постепенно. Так, через 3 ч температура достоверно оставалась сниженной на 0,9 °C, а через 4 ч – на 0,83 °C, что по эффективности равно соответственно 2,34 и 2,17 % относительно температуры тела животных на фоне гипертермической реакции, то есть жаропоникающее действие под воздействием вещества V было выражено более отчетливо, чем под воздействием СК и АСК в течение 4 часов. Через 5 ч температура тела восстановилась практически до исходной температуры тела при гипертермической реакции.

Под воздействием веществ VII и VIII температура тела через 2 ч после их введения не достоверно снижалась соответственно на 0,80 и 0,87 °C, что составляло 2,04 и 2,18 % относительно температуры тела животных на фоне гипертермической реакции, и по эффективности они были равны АСК и уступали СК. При последующем наблюдении температура тела под воздействием веществ VII оставалась сниженной. Через 3 ч температура снизилась на 1,85 °C (4,72 %), через 4 ч – на 1,73 °C (4,43 %). Достоверное снижение температуры было через 5 ч после введения на 1,53 °C (3,91 %), то есть вещество VII оказывало жаропоникающее действие, но гипотермический эффект развивался медленнее, чем под воздействием СК.

Под воздействием вещества VIII температура тела в течение первых двух часов понижалась медленнее, чем под воздействием СК, но в последующие два часа температура понижалась более выраженно, чем под воздействием СК и АСК. Так через 3 ч температура достоверно снижалась на 0,97 °C (2,43 %), через 4 ч – на 0,87 °C (2,18 %). Через 5 ч жаропоникающее действие вещества VIII было равно СК.

У двух новых производных СК выраженная жаропоникающая активность выявлена очень слабо. Так, у веществ III и IV жаропоникающая активность была ниже, чем у препаратов сравне-

ния – СК и АСК в течение пяти часов после введения изучаемых соединений. Вещество II не оказывало жаропоникающего действия через 2 ч после введения.

Острая токсичность ( $LD_{50}$ ) некоторых новых производных СК находится в пределах 2296,81–3846,70 мг/кг (табл. 3).

Таблица 3

Показатели острой токсичности наиболее активных производных СК и АСК через 24 ч после однократного введения

Производные СК и АСК	$LD_{50}$ , мг/кг
Соединение I	3846,7 (7584,197÷1951,067)
Соединение VI	2296,817442 (4643,183÷1136,154)
Соединение VII	2679,290 (4448,58÷1613,68)

Согласно литературным данным,  $LD_{50}$  АСК при пероральном введении белым мышам равняется 250 мг/кг.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнение показывает, что новые испытуемые соединения в несколько раз менее токсичны, чем АСК (аспирин).

Таким образом, новые производные СК и АСК по жаропоникающему действию превышают СК и АСК (некоторые значительно) и могут представлять практический интерес. Наиболее выраженное и длительное жаропоникающее действие оказывают фосфорсодержащий эфир (вещество VI) и алифатические эфиры СК (вещество I) и АСК (вещество VII).

### ЛИТЕРАТУРА

1. Абелев Г. И. Воспаление // Соросовский образовательный журнал. – 1996. – № 10. – С. 28-32.
2. Государственный реестр лекарственных средств. Т. II. Официальное издание. – М., 2004.
3. Машковский М. Д. Лекарственные средства: Пособие для врачей. Т. 2. – М., 2000. – 608 с.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ: Метод. указания по изучению новых нестероидных противовоспалительных средств / Под общ. ред. чл.-корр. РАМН проф. Р. У. Хабриева. – М., 2005. – 832 с.
5. Титце Л., Айхер Т. Препартивная органическая химия. Реакции и синтезы в практикуме органической химии и научно-исследовательской лаборатории. – М., 1999. – 704 с.