

## 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, ЛД<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, анти-септических 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 неизбежным торможением активности циклооксигеназ, регулирующих синтез простагландинов [1]. В результате не образуются простагландины, обеспечивающие формирование отека и гипералгезии. 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 (АСК) – пролекарство, в организме разлагается с образованием СК [2].

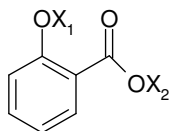
Из особенностей физиологического действия салицилатов важно отметить и другие эф-

фекты, например такие как: гипогликемизирующий – позволяющий назначать их больным сахарным диабетом, отсутствие задержки жидкости, прямое стимулирование дыхательного центра и, наконец, понижение склонности к тромбообразованию в связи с торможением агрегации тромбоцитов и некоторым уменьшением синтеза протромбина под влиянием АСК [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 E<sub>2</sub> и простаглицина, обострение бронхиальной астмы по причине бронхоспазма за счет снижения простагландина E<sub>2</sub> и увеличения продукции лимфоцитов, аллергические реакции (кожная сыпь, ангионевротический отек, бронхоспазм), тромбоцитопения, анемия, лейкопения, синдром Рейе (энцефалопатия и острая жировая дистрофия печени с быстрым развитием печеночной недостаточности), формирование на основе гаптенного механизма "аспириновой астмы" и "аспириновой триады" (сочетание бронхиальной астмы, рецидивирующего полипоза носа и околоносовых пазух и непереносимости АСК) [2].

Нами были получены новые производные СК и аспирина, являющиеся жирорастворимыми соединениями, которые испытали на жаропонижающую активность. Кроме такой активности, изучалась острая токсичность следующих наиболее активных соединений: бутилсалицилата (I),

диметил-β-(О-салицилоил)этилфосфоната (VI), аллилового эфира АСК (VII).



- $X_1 = H, X_2 = CH_2CH_2CH_2CH_3$  (I)  
 $X_1 = H, X_2 = CH_2CH_3$  (II)  
 $X_1 = H, X_2 = CH_2CH(CH_3)_2$  (III)  
 $X_1 = H, X_2 = CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$  (IV)  
 $X_1 = H, X_2 = CH_2CH_2P(O)(OCH(CH_3)_2)_2$  (V)  
 $X_1 = H, X_2 = CH_2CH_2P(O)(OCH_3)_2$  (VI)  
 $X_1 = C(O)CH_3, X_2 = CH_2CH=CH_2$  (VII)  
 $X_1 = H, X_2 = CH_2-NC(=O)-CH_2$  (VIII)

### 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  $K_2CO_3$  до щелочной реакции и вновь водой. Продукт сушат над безводным  $MgSO_4$ , фильтруют, перегоняют. При получении соеди-

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

Соединение VII получено методом взаимодействия галогенида с АСК в присутствии  $K_2CO_3$  в среде растворителя. Смесь АСК, аллилбромид, высушенного  $K_2CO_3$  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 эпексидирования VII пероксидом водорода в щелочной среде [5]. К раствору аллилсалицилата, 35 %-го пероксида водорода в 20,0 мл этанола, охлажденному до 15 °С, прикапывают 6 М гидроксида натрия, поддерживая температуру 15–20 °С. По окончании прибавления смесь перемешивают 3 ч при 20–25 °С, затем промывают  $H_2O$  и экстрагируют эфиром. Эфирную фазу промывают водой, 3 %-м KI и высушивают над  $MgSO_4$ . 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., °С (2–5 мм рт. ст.)	Брутто-формула	$n_D^{20}$	$d_4^{20}$	Химический сдвиг, δ, м. д.
I	70,2	126–130	$C_{11}H_{14}O_3$	1,5138	1,0253	6,70–7,78 м (4H, фенилен), 4,35–4,46 д (2H, O-CH <sub>2</sub> ), 1,52–1,64 м (4H, CH <sub>2</sub> ), 0,92–1,00 м (3H, CH <sub>3</sub> ), 11,19 с (1H, Ar-OH)
II	42,8	98–100	$C_9H_{10}O_3$	1,5220	1,1299	6,34–7,30 м (4H, фенилен), 3,89–4,29 д (2H, O-CH <sub>2</sub> ), 1,52–1,64 м (4H, CH <sub>2</sub> ), 0,81–1,30 м (3H, CH <sub>3</sub> ), 10,82 с (1H, Ar-OH)
III	29,3	128–133	$C_{11}H_{14}O_3$	1,5101	1,0101	6,87–7,85 м (4H, фенилен), 3,90–4,13 м (2H, O-CH <sub>2</sub> ), 2,1 с (CH), 0,9–1,03 м (6H, CH <sub>3</sub> ), 10,8 с (1H, Ar-OH)
IV	57,7	145–147	$C_{12}H_{16}O_3$	1,5058	1,0728	6,92–8,00 м (4H, фенилен), 3,9–4,2 д (2H, O-CH <sub>2</sub> ), 1,38–1,76 м (6H, CH <sub>2</sub> ), 0,81–0,93 м (3H, CH <sub>3</sub> ), 10,35 с (1H, Ar-OH)
V	31,3	180–182	$C_{15}H_{23}O_6P$	1,4910	1,1388	6,84–7,80 м (4H, фенилен), 4,42–4,71 д (2H, O-CH <sub>2</sub> ), 4,43–4,61 м (2H, P-CH <sub>2</sub> ), 3,07–3,76 м (2H, O-CH), 0,88–1,46 м (12H, CH <sub>3</sub> ), 10,96 с (1H, Ar-OH)
VI	43,1	178–179	$C_{11}H_{15}O_6P$	1,4992	1,2311	6,92–8,04 м (4H, фенилен), 4,34–4,47 м (2H, O-CH <sub>2</sub> ), 2,25–2,46 м (2H, P-CH <sub>2</sub> ), 3,64–3,74 т (6H, O-CH <sub>3</sub> ), 11,02 с (1H, Ar-OH)
VII	68,4	130–131	$C_{12}H_{12}O_4$	1,5145	1,1214	6,95–8,07 м (4H, фенилен), 4,55–4,62 м (2H, CH <sub>2</sub> ), 5,86–6,0 м (1H, HC=C), 4,97–5,11 м (2H, C=CH <sub>2</sub> ), 2,08 с (3H, CH <sub>3</sub> )
VIII	36,2	102–105	$C_{12}H_{12}O_5$	1,5340	1,2411	6,95–7,93 м (4H, фенилен), 3,97–4,15 м (2H, CH <sub>2</sub> ), 2,84–3,04 д (2H, O-CH <sub>2</sub> ),

						3,86-3,89 м (1Н, НС-О), 2,26 с (3Н, СН <sub>3</sub> )
--	--	--	--	--	--	---

Спектры ЯМР <sup>1</sup>H регистрировали на спектрометре "Tesla BS-567 A" (100 МГц) в растворах четыреххлористого углерода, ацетона-D<sub>6</sub>, 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 жаропонижающих 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 эквимоллярных количествах по АСК. Лихорадочную реакцию вызывали подкожным введением 20 %-й суспензии пекарских дрожжей в дозе 1 мл/кг. Исследуемые соединения вводили через зонд внутригастралью 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 развившейся 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. Жаропонижающее 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 внутривенно 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 проводи-

лись 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 ЛД<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 жаропонижающее действие различной степени выраженности и длительности.

Через 2 ч после введения вещества I температура тела крыс понизилась на 1,1 °С, т. е. по жаропонижающей активности вещество I через 2 ч после введения по эффекту равно СК (–1,04 °С) и несколько превосходило АСК (–0,78 °С, табл. 1). Через 3 и 4 ч после введения жаропонижающее действие вещества I усиливалось, температура снижалась на 1,37 °С через 3 ч и на 1,33 °С 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 °С, что составляло 2,71 % относительно температуры тела животных на фоне развившейся гипертермии.

Таблица 2

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

Вещества	Гипотермическая реакция, Δ °С			
	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*
<b>I</b>	<b>–1,1*</b>	<b>–1,37*</b>	<b>–1,33*</b>	<b>–1,07*</b>
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
<b>VI</b>	<b>–1,47*</b>	<b>–1,27*</b>	<b>–1,03*</b>	<b>–0,93*</b>
<b>VII</b>	<b>–0,80</b>	<b>–1,85*</b>	<b>–1,73*</b>	<b>–1,53*</b>
VIII	–0,87	–0,97*	–0,87*	–0,63*

\* – достоверно при p < 0,05.

При изучении жаропонижающей активности вещества VI температура тела через 2 ч после введения снижалась на 1,47 °С (табл. 2), что составляло 3,72 % относительно температуры тела

животных на фоне развившейся 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 относительно 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 °С, 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 °С, а через 4 ч – на 0,83 °С, что по эффективности равно соответственно 2,34 и 2,17 % относительно температуры тела животных на фоне гипертермической реакции, то есть жаропонижающее 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 °С, 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 °С (4,72 %), через 4 ч – на 1,73 °С (4,43 %). Достоверное снижение температуры было через 5 ч после введения на 1,53 °С (3,91 %), то есть вещество VII оказывало жаропонижающее 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 выражено, чем под воздействием СК и АСК. Так через 3 ч температура достоверно снижалась на 0,97 °С (2,43 %), через 4 ч – на 0,87 °С (2,18 %). Через 5 ч жаропонижающее действие вещества VIII было равно СК.

У двух новых производных СК выраженная

жаропонижающая активность выявлена очень слабо. Так, у веществ III и IV жаропонижающая активность была ниже, чем у препаратов сравнения – СК и АСК в течение пяти часов после введения изучаемых соединений. Вещество II не оказывало жаропонижающего действия через 2 ч после введения.

Острая токсичность (ЛД<sub>50</sub>) 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	ЛД <sub>50</sub> , 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, ЛД<sub>50</sub> АСК при пероральном введении белым мышам равняется 250 мг/кг.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

Таким образом, новые производные СК и АСК по жаропонижающему действию превышают СК и АСК (некоторые значительно) и могут представлять практический интерес. Наиболее выраженное и длительное жаропонижающее 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. *Тутце Л., Айхер Т.* Препаративная органическая химия. Реакции и синтезы в практикуме органической химии и научно-исследовательской лаборатории. – М., 1999. – 704 с.