

Противовоспалительное действие производных 5-оксипириимидина на модели индуцированного полным адьювантом Фрейнда отёка стопы и скакательного сустава у крыс

Журиков Р. В., Коваленко Л. П., Никитин С. В.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Аннотация. В опытах на 60 аутбредных самцах крыс массой 180–200 г изучено противовоспалительное действие производных 5-оксипириимидина: СНК-411 [2 изобутил-4,6 диметил-5 оксипириимидина] и СНК-578 [хлоргидрат 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипириимидина] в сравнении с преднизолоном на ПАФ-индуцированный отёк стопы и скакательного сустава крыс. Преднизолон, СНК-411 и СНК-578 вводили 2 раза за 24 и 2 часа до введения полного адьюванта Фрейнда (ПАФ). Преднизолон вводили в дозе 10 мг/кг, СНК-411 – в дозах 25 и 40 мг/кг, СНК-578 – в дозах 10 и 25 мг/кг. Отёк стопы и скакательного сустава регистрировали через 24 часа после субплантарного введения 0,1 мл ПАФ в правую лапу. Двукратное введение преднизолона в дозе 10 мг/кг вызывало значимое подавление отёка стопы в плюсневой области и скакательного сустава у крыс, СНК-578 в дозе 25 мг/кг подавлял экссудативный отёк стопы, введение СНК-411 в дозе 40 мг/кг вызывало значимое подавление отёка стопы и скакательного сустава. Полученные результаты согласуются с данными о противоаллергенном действии производных 5-оксипириимидина на модели системной реакции анафилаксии в опытах на морских свинках.

Ключевые слова: производные 5-оксипириимидина; преднизолон; полный адьювант Фрейнда (ПАФ)

Для цитирования:

Журиков Р. В., Коваленко Л. П., Никитин С. В. Противовоспалительное действие производных 5-оксипириимидина на модели индуцированного полным адьювантом Фрейнда отёка стопы и скакательного сустава у крыс. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2022;(3):33–36. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2022-3-33-36>

Поступила: 19 сентября 2022 г. **Принята:** 21 сентября 2022 г. **Опубликована:** 24 октября 2022 г.

Anti-inflammatory properties of 5-hydroxypyrimidine derivatives on the model of CFA-induced paw and ankle joint edema in rats

Zhurikov RV, Kovalenko LP, Nikitin SV

FSBI "Zakusov Institute of Pharmacology", Moscow, Russian Federation

Abstract. Anti-inflammatory potency of 5-hydroxypyrimidine derivatives SNK-411 (2-isobutyl-4,6-dimethyl-5-hydroxypyrimidine) and SNK-578 (hydrochloride 2-isobutyl-4,6-dimethyl-5-hydroxypyrimidine) was evaluated on the model of complete Freund's adjuvant (CFA)-induced exudative inflammation in experiment on 60 outbreed male rats weighing 180–200 g in comparison with prednisolone. Prednisolone, SNK-411 and SNK-578 were injected twice: in 24 and 2 hours in before the injection of CFA. Prednisolone was administered in dose of 10 mg/kg, SNK-411 in doses of 25 mg/kg and 40 mg/kg, SNK-578 in doses of 10 mg/kg and 25 mg/kg. Paw and ankle joint edema were registered 24 hours after subplantar injection of CFA in right hind foot. Prednisolone administration in dose of 10 mg/kg decreased paw and ankle joint edema, SNK-578 in dose of 25 mg/kg decreased exudative edema of the paw, SNK-411 in dose of 40 mg/kg decreased paw and ankle joint edema. Acquired data correlates with previously obtained results that 5-hydroxypyrimidine derivatives have antiallergenic effect on the model of systemic anaphylaxis in experiment on guinea pigs.

Keywords: 5-hydroxypyrimidine derivatives; prednisolone; complete Freund's adjuvant (CAF)

For citations:

Zhurikov RV, Kovalenko LP, Nikitin SV. Anti-inflammatory properties of 5-hydroxypyrimidine derivatives on the model of CFA-induced paw and ankle joint edema in rats. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2022;(3):33–36. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2022-3-33-36>

Received: September 19, 2022. **Accepted:** September 21, 2022. **Published:** October 24, 2022

Введение / Introduction

Различные патологические изменения иммунной системы при хронических воспалительных иммунных процессах приводят к росту аллергических и онкологических заболеваний. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), частота аллергических патологий за последнее десятилетие выросла в 2–3 раза, аллергическими заболеваниями страдают 10–20 % детского населения, на протяжении жизни аллергические заболевания проявляются почти у каждого третьего человека планеты [1, 2].

В отделе химии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» синтезировано производное 5-оксипириимидина: СНК-411 [2 изобутил-4,6 диметил-5 оксипириимидин, патент RU2518889 С2 (Bull. № 16, 10.06.2014, ФИПС, Москва)], обладающее выраженными противовоспалительными и противоопухолевыми свойствами. Для получения препарата с улучшенными технологическими характеристиками, более выраженной противоопухолевой и противоаллергенной активностью было синтезировано новое соединение СНК-578 [хлоргидрат 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипириимидина – патент RU 2686672 С1 (Bull. №13, 30.04. 2019, ФИПС, Москва)].

СНК-411 и СНК-578 являются малотоксичными соединениями: ЛД₅₀ СНК-411 при внутрибрюшинном (в/б) введении аутбредным мышам самцам составляет 625 мг/кг, при пероральном введении ЛД₅₀ составляет 1399 мг/кг, у СНК-578 ЛД₅₀ при в/б введении составляет

625 мг/кг, при пероральном введении ЛД₅₀ составляет 1399 мг/кг, у СНК-578 ЛД₅₀ при в/б введении составляет

547 мг/кг, оптимальные дозы для курсового введения мышам-опухоленосителям разных линий составили: для СНК-411 – 25 мг/кг, для СНК-578 – 10 мг/кг. СНК-411 и СНК-578 обладают противоаллергенным действием, сопоставимым с супрастином, уменьшая гибель от анафилаксии морских свинок альбиносов [3].

Модель отёка лапы крыс, индуцированного полным адьювантом Фрейнда (ПАФ), является пилотной и позволяет быстро оценить способность производных 5-оксипиримидина влиять на экссудативную фазу воспаления, в индукции которого основную роль играют продукты липооксигеназного пути метаболизма арахидоновой кислоты [4]. Целью настоящего исследования было изучение влияния производных 5-оксипиримидина в сравнении с преднизолоном на ПАФ-индуцированный отёк стопы и скакательного сустава крыс.

Материалы и методы / Material and methods

В настоящей работе изучение действия производных 5-оксипиримидина в сравнении с преднизолоном на ПАФ-индуцированный отёк стопы и скакательного сустава крыс было проведено на 60 аутбредных самцах крыс массой 160–180 г (по 10 животных в каждой группе), полученных из питомника «Филиал «Столовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА» России (Московская обл.). Животных содержали при 12-часовом световом режиме на стандартном сбалансированном брикетированном корме со свободным доступом к пище и воде при естественном освещении и температуре воздуха 20–21 °С. Животных содержали в соответствии с приказом Минздрава России № 199н от 01 апреля 2016 года «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 29 августа 2014 г. № 51. Все эксперименты с животными проводили в соответствии с международными правилами (Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях) и правилами работы с животными, утверждёнными этической комиссией ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

В качестве препарата сравнения использовали преднизолон (Repeval). Преднизолон, СНК-411 и СНК-578 вводили внутривенно 2 раза за 24 часа и 2 часа до введения ПАФ, преднизолон вводили в дозе 10 мг/кг, СНК-411 в дозах 25 мг/кг и 40 мг/кг, СНК-578 – в дозах 10 и 25 мг/кг. Отёк стопы и скакательного сустава регистрировали инженерным микрометром через 24 часа после субплантарного введения 0,1 мл ПАФ (Sigma) в правую лапу.

Исследование проведено на самцах аутбредных крыс в 6 группах:

1) группа активного контроля с ПАФ, которым вводили 0,1 мл ПАФ;

2) группа животных с ПАФ, которым вводили в/б дважды за 24 часа и 2 часа до введения ПАФ преднизолон в дозе 10 мг/кг;

3) группа животных с ПАФ, которым вводили в/б дважды за 24 часа и 2 часа до введения ПАФ СНК-578 в дозе 10 мг/кг;

4) группа животных с ПАФ, которым вводили в/б дважды за 24 часа и 2 часа до введения ПАФ СНК-578 в дозе 25 мг/кг;

5) группа животных с ПАФ, которым вводили в/б дважды за 24 часа и 2 часа до введения ПАФ СНК-411 в дозе 25 мг/кг;

6) группа животных с ПАФ, которым вводили в/б дважды за 24 часа и 2 часа до введения ПАФ СНК-411 в дозе 40 мг/кг.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения STATISTICA 12. Проверка на нормальность распределения проводилась с применением критерия Шапиро–Уилка. Все регистрируемые характеристики животных представлены в таблицах в виде медианы, первого и последнего квартилей $M (Q1:Q4)$. Для проверки гипотезы об однородности групп исследования с нормальным распределением в исследуемой популяции проводили тестирование отсутствия различий между группами при помощи t -критерия Стьюдента. В случае распределения, отличающегося от нормального, для сравнения показателей использовался непараметрический критерий Манна–Уитни. Результаты считались статистически достоверными, если значение p было меньшим или равным 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение / Results and discussion

Полученные результаты представлены в табл. 1.

Изменение диаметра стопы в плюсневой области и скакательного сустава правой задней конечности крыс с вызванным ПАФ воспалительным процессом.

Как видно из результатов, представленных в таблице двукратное введение преднизолона в дозе 10 мг/кг вызывало значимое подавление отёка плюсневой области стопы и скакательного сустава у крыс, иммунизированных ПАФ. Введение СНК-578 в дозе 10 мг/кг и СНК-411 в дозе 25 мг/кг не подавляло экссудативный отёк стопы и скакательного сустава, вызванный ПАФ. СНК-578 в дозе 25 мг/кг значимо уменьшал отёк стопы в плюсневой области. СНК-411, введённый в/б в дозе 40 мг/кг, значимо подавлял отёк стопы и скакательного сустава. Таким образом, введение СНК-411 в дозе 40 мг/кг оказывает сопоставимый с преднизолоном, введённым в дозе 10 мг/кг, противовоспалительный эффект на отёк стопы и скакательного сустава. При введении СНК-578 в дозе 25 мг/кг не наблюдалось уменьшение диаметра скакательного сустава.

Таблица 1

Изменение диаметра стопы в плюсневой области и скакательного сустава правой задней конечности крыс с вызванным полным адьювантом Фрейнда воспалительным процессом

Table 1

Changes in the diameter of the foot in the metatarsal region and the ankle joint of the right hind limb of rats with complete Freund's adjuvant – induced inflammation

Группа, n = 10	Активный контроль ПАФ	Преднизолон 10 мг/кг	СНК-578 10 мг/кг	СНК-578 25 мг/кг	СНК-411 25 мг/кг	СНК-411 40 мг/кг
Диаметр стопы, см	2,25 (2,17:2,68)	1,92 (1,77:1,98)*	2,16 (1,98:2,35)	1,96 (1,67:2,16)*	2,34 (2,13:2,45)	1,77 (1,4:2,05)*
Диаметр сустава, см	1,82 (1,6:2,02)	1,27 (0,9:1,81)*	1,52 (0,73:1,95)	1,6 (1,38:1,89)	1,61 (1,15:1,76)	1,17 (0,65:1,32)*

Примечания: n – число животных в группе; * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой по критерию Манна-Уитни.
Notes: n – number of animals in groups; * – $p < 0,05$ statistically significant difference in comparison to control group, Mann-Whitney test

Воспаление является многокомпонентным процессом, с множеством альтернативных и перекрещивающихся связей. При аллергических реакциях немедленного типа, в частности аллергической бронхиальной астме, метаболизм арахидоновой кислоты в основном идёт по липооксигеназному пути [5]. При индукции ПАФ-индуцированного отёка лапы крыс основную роль играют продукты липооксигеназного пути метаболизма арахидоновой кислоты [4]. Полученные в данной работе результаты согласуются с данными о противоаллергенном действии производных 5-оксипиримидина на модели системной реакции анафилаксии на овальбумин в опытах на морских свинках альбиносах. СНК-411 при в/б введении в дозе 50 мг/кг в 1,8 раза подавлял индекс анафилактической реакции по Weigle на овальбумин. СНК-578 в дозах 25 мг/кг и 50 мг/кг

также обладал противоаллергенным действием, в 2,8 и в 10 раз подавляя индекс анафилактической реакции по Weigle [3].

Таким образом, полученные данные указывают на возможное подавление производными 5-оксипиримидина липооксигеназного пути воспаления, что целесообразно изучить в дальнейших исследованиях.

Финансирование. Работа выполнена в рамках Государственного задания № ЕГИСУ 122020100334-2.

Financing. The work was carried out within the framework of State task № ЕГИСУ 122020100334-2.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. Authors declare that there is no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Журиков Руслан Владимирович

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1084-690X>

SPIN-код: 6648-1794

м. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Zhurikov Ruslan V.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1084-690X>

SPIN code: 6648-1794

Junior researcher of laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Коваленко Лариса Петровна

Автор, ответственный за переписку

e-mail: kovalenko.larisa@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2083-0832>

SPIN-код: 5185-4250

д. б. н., в. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Kovalenko Larisa P.

Corresponding author

e-mail: kovalenko.larisa@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2083-0832>

SPIN code: 5185-4250

Dr. Sci. Biological, Leading researcher of laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Никитин Сергей Васильевич

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7630-7816>

к. х. н., с. н. с. отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Nikitin Sergey V.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7630-7816>

PhD, Cand. Sci. (Chemical), Senior researcher of laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Список литературы / References

1. Бельская Н.В., Данилец М.Г., Бельский Ю.П. и др. Моделирование системной анафилаксии на мышах линии Balb/c. *Биомедицина*. 2010;(1):37–50. [Belska NV, Danilets MG, Belsky YP, et al. Modelling of an anaphylaxis using BALB/c mice. *Biomedicine*. 2010; 1(1):37–50 (In Russ).].

2. Кузубова Н.А., Титова О.Н. T2-ассоциированные заболевания: в фокусе коморбидный пациент. *Медицинский совет*. 2020;(17):57–64. [Kuzubova N.A., Titova O.N. T2-associated diseases: focus on the comorbid patient. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2020;(17):57–64. (In Russ).]. DOI: 10.21518/2079-701X-2020-17-57-64

3. Коваленко Л.П., Коржова К.В., Никитин С.В. Противоаллергенная и противовоспалительная активность производных 5-оксиимидина (СНК-411 и СНК-578). *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2020;83(10):9–12. [Kovalenko LP, Korzhova KV, Nikitin SV.

Antiallergic and anti-inflammatory activity of 5-oxypyrimidine derivatives (SNK-411 and SNK-578). *Experimental and clinical pharmacology*. 2020;83(10):9–12. (In Russ.). DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-10-9-12

4. Утешев Д.Б. Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств для лечения бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1 / под ред. А.Н. Миронова. Москва: Гриф и К; 2012. 501. [Uteshev DB. Metodicheskie rekomendatsii po doklinicheskomu izucheniyu lekarstvennih sredstv dlya lecheniya bronhialnoi astmi i hronicheskoy obstruktivnoi bolezni legkih. Rukovodstvo po provedeniyu issledovaniy lekarstvennih sredstv. Ed by Mironov AN. Moscow: Grif I K; 2012. (In Russ).].

5. Douwes J, Gibson P, Pekkanen J, Pearse N. Non-eosinophilic asthma: importance and possible mechanisms. *Thorax*. 2002;57(7):643–648. DOI: 10.1136/thorax.57.7.643.