

*А.Ю. Иванова, О.С. Рашкевич*

## **ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ ХИНОНА**

*Научный руководитель: канд.мед.наук, доц. А.В. Волчек*

*Кафедра фармакологии*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

*A.Y. Ivanova, O.S. Rashkevich*

## **ANTI-INFLAMMATORY PROPERTIES OF QUINONE DERIVATIVES**

*Tutor: PhD, associate professor A.U. Vauchok*

*Department of Pharmacology*

*Belarusian State Medical University, Minsk*

**Резюме.** Изучены противовоспалительные свойства 1,4-бензохинона и тимохинона при однократном внутривентральном введении на модели каррагенинового отека лапы у мышей. Показано, что исследованные соединения обладают значительным зависимым от дозы противовоспалительным эффектом, среднеэффективная доза 1,4-бензохинона на данной модели составила 4,47 мг/кг, а среднеэффективная доза тимохинона – 57 мг/кг.

**Ключевые слова:** 1,4-пара-бензохинон, тимохинон, гидрохинон, воспаление, каррагенин.

**Resume.** Anti-inflammatory properties of 1,4-benzoquinone and thymoquinone after a single intraperitoneal injection in a model of carrageenan paw edema in mice were studied. Tested quinone derivatives have a significant dose-dependent anti-inflammatory effect. The average effective dose of 1,4-benzoquinone calculated by the method of regression analysis in this model is 4.47 mg/kg; the average effective dose of thymoquinone is 57 mg/kg.

**Keywords:** 1,4-para-benzoquinone, thymoquinone, hydroquinone, inflammation, carrageenan.

**Актуальность.** Воспаление представляет собой типовой защитно-приспособительный процесс, возникающий в ответ на действие раздражителя-патогена. Характер развития воспалительного процесса и его динамика в значительной мере обусловлены комплексом медиаторов воспаления – биологически активных веществ, которые выделяются в очаге действия раздражителя-патогена и являются посредниками в реализации действия агентов, вызывающих воспаление. Многие изменения в организме, развивающиеся вследствие воспаления, являются нежелательными и рассматриваются как объект терапии. Одной из наиболее востребованных групп лекарственных средств для уменьшения отека тканей, боли и других симптомов при воспалении являются нестероидные противовоспалительные средства (НПВС). Они нашли широкое применение благодаря безопасности, доступности и удовлетворительной эффективности. Противовоспалительное, болеутоляющее и жаропонижающее действие этих препаратов связано со снижением синтеза простагландинов. Однако, противовоспалительный эффект НПВС ограничен определенным пределом, выше которого он не может возрасти при простом увеличении дозы, что обусловлено различным, но ограниченным вкладом простагландинов в патологический процесс. Эффективность НПВС также нельзя повысить путем совместного применения нескольких представителей этого класса лекарств. Поэтому определенный интерес представляет поиск средств, влияющих на другие медиаторы острой фазы воспаления и использование таких соединений как

для монотерапии, так и в комбинации с НПВС. В качестве потенциальных противовоспалительных агентов и компонентов противовоспалительных комбинаций большой интерес представляют производные хинона, известные своими антиоксидантными свойствами и влиянием на процессы генерации энергии в клетке.

**Цель:** изучить противовоспалительную активность и эффективность производных хинона оригинальной структуры в скрининговом объеме исследования.

**Задачи:**

1. На модели острого каррагенинового отека лапы у мышей определить противовоспалительные свойства гидрохинона, тимохинона и 1,4-бензохинона при внутрибрюшинном введении в сравнении с препаратом сравнения диклофенаком.

2. Рассчитать показатели активности ( $ED_{50}$ ) и эффективности (индексы ингибирования) соединений.

**Материалы и методы.** Противовоспалительные свойства производных хинона изучали в опытах на 60 мышах-самцах линии C57Bl/6 массой 28-35 г на модели острого каррагенинового отека. Ирритант лямбда-каррагенин приобретен в Sigma Aldrich, США. Субстанции гидрохинона, тимохинона и 1,4-бензохинона были предоставлены кафедрой радиационной медицины и химико-фармацевтических технологий химического факультета Белорусского государственного университета; использован диклофенак производства Берлин-Хеми АГ, Германия. Подопытные и контрольные группы по 6 мышей формировали методом рандомизации по массе тела в качестве ведущего признака. За 40 минут до индукции воспаления животным внутрибрюшинно в объеме 0,4 мл / 10 г массы тела вводили препараты: 1,4-бензохинон в дозах 1 мг/кг, 2 мг/кг и 5 мг/кг; тимохинон в дозах 5 мг/кг, 10 мг/кг и 20 мг/кг; гидрохинон в дозе 5 мг/кг, составляющих менее 1/10  $LD_{50}$ . В качестве препарата сравнения применяли диклофенак в дозе 10 мг/кг, обладающий стандартной для НПВС противовоспалительной эффективностью и использующийся в качестве эталона в подобных исследованиях. Для растворения субстанций использовали изосмолярный водный раствор хлорида натрия с добавлением 1% этанола и 1% диметилсульфоксида. Контрольные животные получали эквивалентный объем растворителя. Воспаление вызывали введением 1% водного раствора  $\lambda$  каррагенина в объеме – 0,03 мл, под плантарный апоневроз задней правой лапы. Величину отека регистрировали в динамике ежечасно на протяжении 5 часов и спустя 24 часа по изменению толщины стопы, определяемой при помощи микрометрического устройства с точностью до 0,01 мм в условиях постоянного давления на область отека. Противовоспалительный эффект соединений оценивали по индексам ингибирования различных фаз воспалительной реакции в сравнении с плацебо, которые рассчитывали по формуле:  $100 \times (Sd - Sp)/Sp$ , где Sd и Sp - средние значения отека лапы соответственно для групп, получавших испытуемые препараты или плацебо. Полученные данные обрабатывали с использованием параметрических и непараметрических статистических методов. Эффективные дозы ( $ED_{16}$ - $ED_{84}$ ) субстанций определяли методом регрессионного анализа с использованием вычислительных возможностей компьютерной программы Microsoft Excel. Уравнение регрессии считали качественным при ошибке аппроксимации данных менее 15%.

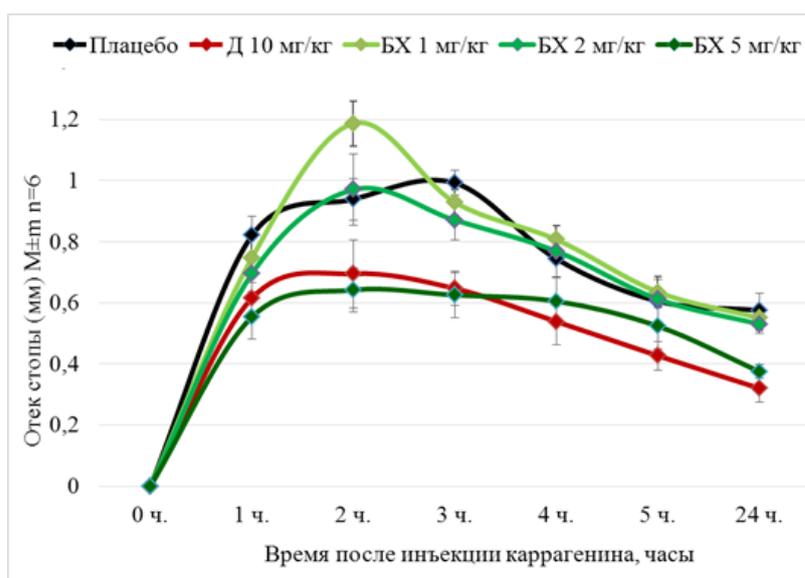
**Результаты и их обсуждение.** Диклофенак, классическое НПВС, в дозе 10 мг/кг статистически значимо ( $p=0,014$  по критерию Дункана) подавлял все фазы отека лапы у мышей, индекс ингибирования острой фазы воспаления составил  $-28,7 \pm 7,8$  (таблица 1), эффект препарата сохранялся на одном уровне на протяжении всего эксперимента. Гидрохинон в дозе 5 мг/кг не оказывал противовоспалительного действия.

**Табл. 1.** Индексы ингибирования различных фаз каррагенинового воспаления лапы (в %) у мышей диклофенака, гидрохинона, тимохинона и 1,4-бензохинона ( $M \pm m$ )

Субстанции	Доза, мг/кг	Фазы воспалительного отека			
		0-2 ч	2-5 ч	0-5 ч	0-24 ч
Диклофенак	10	$-25,3 \pm 8,0^*$	$-30,4 \pm 7,9^*$	$-28,7 \pm 7,8^*$	$-29,7 \pm 7,2^*$
Гидрохинон	5	$12,7 \pm 10,4$	$7,4 \pm 6,2$	$9,2 \pm 7,3$	$11,9 \pm 7,3$
Тимохинон	5	$-12,7 \pm 7,2$	$-22,1 \pm 4,1$	$-18,9 \pm 4,9$	$-19,0 \pm 4,0$
	10	$-20,5 \pm 10,2$	$-16,8 \pm 12,1$	$-18,1 \pm 11,4$	$-19,2 \pm 11,0^*$
	20	$-19,5 \pm 5,9$	$-24,3 \pm 8,6^*$	$-22,7 \pm 7,6^*$	$-23,7 \pm 7,8^*$
1,4-бензохинон	1	$+3,9 \pm 6,5$	$+5,6 \pm 3,7$	$+5,0 \pm 3,2$	$+4,4 \pm 3,0$
	2	$-8,5 \pm 7,5$	$-3,1 \pm 5,8$	$-4,9 \pm 5,9$	$-4,7 \pm 4,9$
	5	$-32,2 \pm 7,8^*$	$-27,7 \pm 8,6^*$	$-29,2 \pm 8,2^*$	$-28,5 \pm 8,0^*$

Примечание. \* -  $p < 0,05$  в сравнении с плацебо по критерию Дункана;  $n=6$

В дозах 1 и 2 мг/кг 1,4-бензохинон, испытанный на каррагениновой модели воспаления, не оказывал существенного влияния на величину экссудативного отека лапы у мышей. В дозе 5 мг/кг препарат обладал значительным противовоспалительным действием, приближаясь к эффекту препарата сравнения диклофенаку в дозе 10 мг/кг (таблица 1, рисунок 1).



**Рис. 1** – Влияние диклофенака (Д) и 1,4-бензохинона (БХ) на динамику острого каррагенинового воспаления лапы у мышей, ( $M \pm m$ );  $n=6$

По выраженности действия на каждую фазу воспалительного отека в отдельности, продолжительности действия и по интегральному индексу

ингибирования 1,4-бензохинон в дозе 5 мг/кг полностью соответствовал препарату сравнения. Регрессионный анализ показал стойкую зависимость доза-противовоспалительный эффект в изученном диапазоне доз, данная закономерность сохранялась на протяжении всего периода наблюдений. При высоком уровне качества аппроксимации данных (точность более 95%), рассчитанная среднеэффективная доза 1,4-бензохинона ( $ED_{50}$ ) на данной модели – 4,47 мг/кг;  $ED_{16}$  и  $ED_{84}$  составили, соответственно, 2,7 мг/кг и 7,5 мг/кг.

Тимохинон в дозах 5, 10 и 20 мг/кг в различные фазы острой воспалительной реакции угнетал отечную реакцию на флогоген на 18-24% (таблица 1, рисунок 2), а его расчетная  $ED_{50}$  по противовоспалительному эффекту составила 56,9 мг/кг. Действие препарата заметно ослабилось на 3-й час после введения. Регрессионный анализ показал дозозависимый характер изменения величины воспалительного отека у мышей, получавших тимохинон.

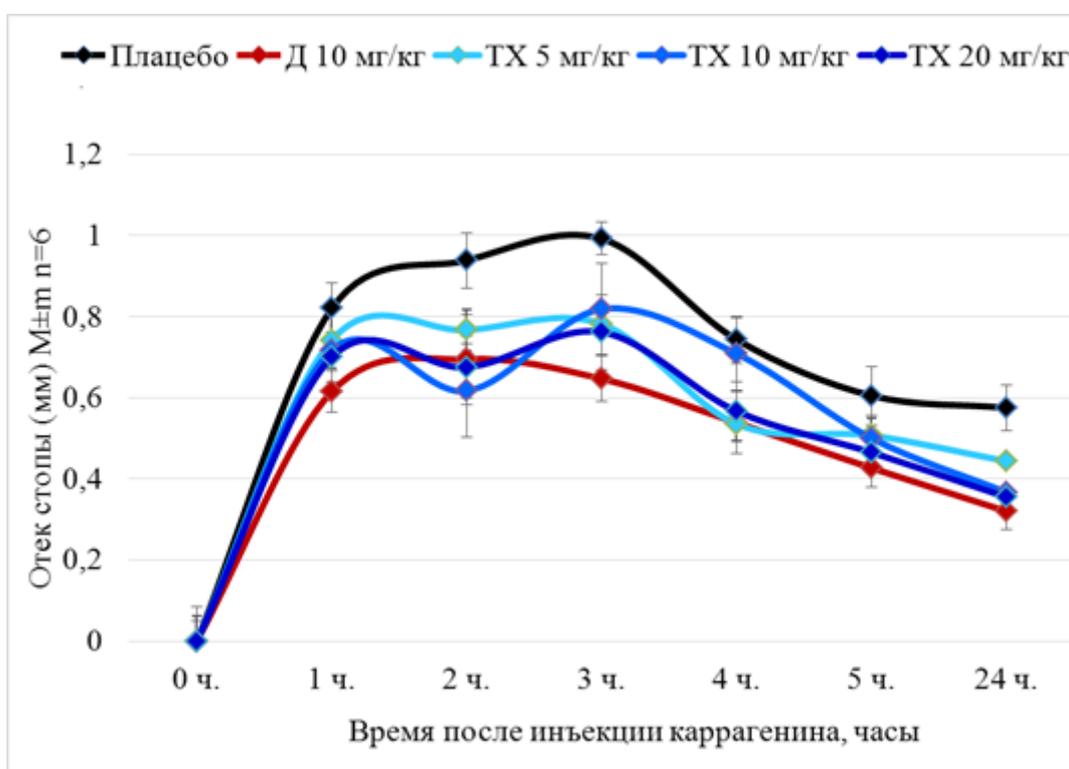


Рис. 2 – Влияние диклофенака (Д) и тимохинона (ТХ) на динамику острого каррагининового воспаления лапы у мышей, ( $M \pm m$ );  $n=6$

Таким образом, на экспериментальной модели каррагининового воспаления при однократном введении среди исследованных производных хинона в использованных дозах наибольшей противовоспалительной активностью и эффективностью обладал 1,4-бензохинон. Действие тимохинона было существенно слабее, а восстановленное соединение 1,4-бензохинона – гидрохинон в эквимолярной дозе при однократном применении не оказывал противовоспалительного действия.

Большой интерес представляют возможные механизмы противовоспалительного действия 1,4-бензохинона и тимохинона. По литературным данным, тимохинон подавляет окислительный стресс *in vitro* и *in vivo* на различных

экспериментальных моделях атеросклероза, метаболического синдрома, воспаления, цитотоксичности [1,2]. Тимохинон ингибирует NF-κB и p53-зависимые процессы, а также повышает экспрессию супероксиддисмутазы-1, каталазы, глутатионпероксидазы-2 [3]. Противовоспалительное действие тимохинона может реализовываться путем ингибирования ИЛ-5, ИЛ-13, ИЛ-6 и ФНО-α миелопероксидаз и фактора активации тромбоцитов, снижением выработки лейкотриенов, подавления продукции NO макрофагами [4, 5]. В целом, биологические эффекты тимохинона и других производных хинона отличаются значительным разнообразием, а для многих из них доказана плейотропность действия. В связи с тем, что влияние хинонов на воспаление не ограничивается ингибированием циклооксигеназозависимого синтеза простагландинов, они могут быть перспективны для создания синергичных противовоспалительных комбинаций, эффективность которых может оказаться выше таковой у НПВС.

#### **Выводы:**

1. 1,4-бензохинон и тимохинон, обладают значительным противовоспалительным эффектом на модели острого каррагенинового отека у мышей. ED<sub>50</sub> 1,4-бензохинона на данной модели – 4,47 мг/кг, ED<sub>50</sub> тимохинона – 56,9 мг/кг. Восстановленное соединение 1,4-бензохинона – гидрохинон в эквимолярной дозе при таких же условиях не оказывает противовоспалительного действия.

2. 1,4-бензохинон и тимохинон могут рассматриваться в качестве возможных индивидуальных противовоспалительных средств, а также как компоненты в составе синергичных противовоспалительных комбинаций и представляют интерес для дальнейших изысканий.

#### **Литература**

1. Dandawate, P. R. Perspectives on medicinal properties of benzoquinone compounds / P.R. Dandawate, A. C. Vyas, S. B. Padhye, M. W. Singh, J. B. Baruah // *Mini Rev Med Chem.* – 2010. – №10(5). – P.436-454.
2. Chandra, S. HIV-1 protease inhibitor induced oxidative stress suppresses glucose stimulated insulin release: protection with thymoquinone / S. Chandra, D. Mondal, K. C. Agrawal // *Exp. Biol. Med.* (Maywood). – 2009. – №234. – P.442-453.
3. Badary, O. A. The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats / O. A. Badary, A. B. Abdel-Naim, M. H. Abdel-Wahab, F. M. Hamada, // *Toxicology.* – 2000. – №143. – P.219-226.
4. Mansour, M. Inhibition of 5-lipoxygenase and leukotriene C4 synthase in human blood cells by thymoquinone / M. Mansour, S. Tornhamre // *J. Enzyme Inhibit. Med. Chem.* – 2004. – №19. – P.431-436.
5. El Gazzar, M. A. Thymoquinone suppresses in vitro production of IL-5 and IL-13 by mast cells in response to lipopolysaccharide stimulation / M. A. El Gazzar // *Inflamm. Res.* – 2007. – №56. – P.345-351.