

NO - ASPIRINS

گروه جدیدی از ضد التهاب‌ها و ضد لخته‌ها

ترجمه: دکتر مرتضی ثمینی

گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی تهران

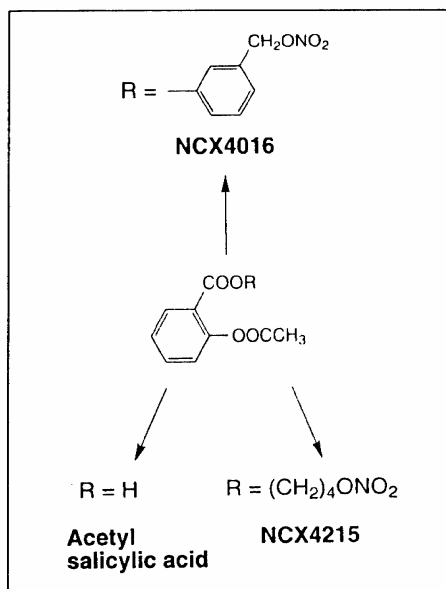
اثرات بیولوژیکی عمدتاً مربوط به COX-1 است (مثل ترومبوز) که مهار کننده‌های COX-2 نمی‌توانند جایگزینی اثر ضد ترومبوزی آسپیرین شوند زیرا آنها COX-1 را مهار نمی‌کنند که این آنزیم فرم سرشتی یا constitutive بوده و در پلاکت‌ها وجود دارد. بنابراین طراحی یک مهارکننده با دورنمای فارماکولوژیکی همانند آسپیرین یا بهتر از آن مشکل است. در حالی که اگر بتوانیم عملکرد گوارشی مهارکننده‌های COX را اصلاح کنیم یقیناً مورد مصرف گسترده‌تر به ویژه به خاطر اثر انحصاری ضد ترومبوزی آنها، پیدا خواهند کرد.

پروستاگلاندین‌ها، NO و سلامتی مخاط

تصور می‌شود که پروستاگلاندین‌ها و NO نقش مهمی در ابقاء سلامتی مخاط ایفا می‌کنند. در واقع، NO خواص محافظت‌کنندگی در معده و سایر اعضا دارد. به ویژه در معده این عامل مانند پروستاگلاندین‌ها اثرات متعددی چون تحریک ترشح موکوس و ابقاء جریان خون مخاطی دارد. به علاوه NO یک ملکول پیام‌رسان مهم و هم‌چنین یک ملکول Cytotoxic effector

داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAIDs) از پر مصرف‌ترین داروها هستند که بیشتر به خاطر اثر ضد التهابی، تب‌بری و ضد درد خود تجویز می‌شود ضمن این که در فرآورده‌های OTC نیز قابل دسترسی هستند. به علاوه، دوز کم آسپیرین به طور فزاینده‌ای به خاطر اثر ضد پلاکتی به کار می‌رود. اشکال اصلی در مصرف NSAIDs مربوط به تمایل آنها به ایجاد اثر سمی روی دستگاه گوارش است و در حقیقت، حتی دوز کم آسپیرین نیز توانایی آسیب به مخاط معده و ایجاد زخم‌ها یا ضایعات خونریزی دهنده یا هر دو را دارد. به موجب اثرات فارماکولوژیک و درمانی NSAIDs، به نظر می‌رسد که سمیت آنها ارتباط نزدیک با مهار فعالیت سیکلواکسیژناز (COX) دارد. اخیراً کشف ایزوفرم inducible سیکلواکسیژناز یعنی COX-2، رونق تازه‌ای به تحقیق درباره کشف مهارکننده‌های انتخابی COX-2 داده است. این مهارکننده‌ها در کوشش برای اصلاح قابلیت تحمل گوارشی و کارایی کشف شده‌اند ولی سودمندی و سلامتی این ملکول‌های جدید هنوز تحت بررسی است و بعضی از مسایل هنوز روشن نشده‌اند. به علاوه، بعضی

(شکل ۱) کدگذاری شده‌اند. NCX4215، ۲- استوکسی بنزوات ۲- (۲- نیتروکسی) - بوتیل استر مایعی با وزن ملکولی ۲۹۹/۳ و روغنی شکل غلیظ زرد روشن است.



شکل ۱- ساختمان شیمیایی آسپیرین و مشتقات نیتروی آن یعنی NCX4215 و NCX4016

NCX4016 عبارت از ۲- استوکسی - بنزوات (۲- نیتروکسی متیل) - فنیل استر با وزن ملکولی ۳۳۵/۳۰ و پودر سفید است. هر دو ترکیب در دمای اطاق پایدار بوده، در آب نامحلول بوده ولی در دی متیل سولفوکساید (DMSO)، متیلن کلراید و متانول محلول هستند.

فارماکودینامیک در مدل‌های تجربی

فعالیت بیولوژیک NCX4016 با استفاده از انواع مدل‌های تجربی ارزیابی و اثرات ضد

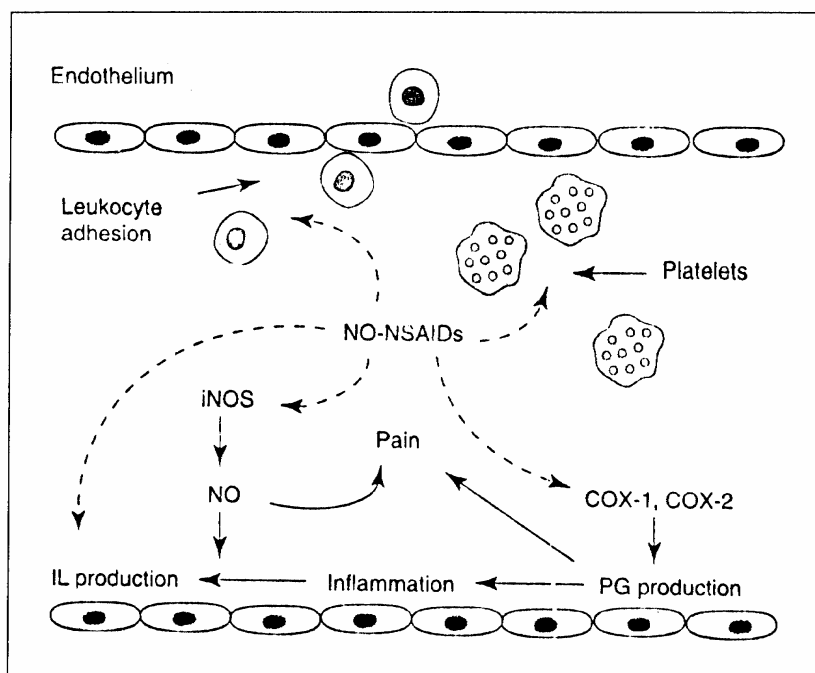
برای پاسخ ایمنی غیراختصاصی است. آگاهی از این خواص فیزیولوژیکی مرتبط به هم در محدوده معده باعث باز شدن راه برای طراحی آسپیرینی شده که بتواند NO آزاد کند تا اثر منفی مربوط به مهار پروستاگلاندین را در دستگاه گوارش جبران کند. در واقع از دیدگاه تئوریک، آزاد شدن NO می‌تواند جانشین پروستاگلاندین‌ها شده و تعادل به هم ریخته بین عوامل مهاجم و دفاعی توسط مهارکننده‌های COX-1 را در دستگاه گوارش دوباره برقرار کند. به علاوه، چون NO در شرایط پاتولوژیکی که پلاکت‌ها، سلول‌های آندوتلیال و سایر سلول‌ها فعالانه دخیل هستند و به ویژه در روند التهاب نقشی ایفا می‌کند این داروهای NO-aspirins می‌توانند اثر ضد التهابی افزایش یافته‌ای داشته باشند. این دیدگاه باعث تولید گروه جدیدی از NSAID به نام NO-aspirins شده که NO آزاد می‌کنند و برای دستگاه گوارش سالم هستند. البته، جالب‌ترین جنبه این دیدگاه، طراحی آسپیرین بوده که عاری از اثرات جانبی گوارشی باشد ضمن این که خواص فارماکولوژیک آسپیرین را داشته باشد. در واقع اصلاح توانایی آسپیرین low-dose برای مهار COX-1 کار مشکلی است ولی تولید آسپیرینی که اثرات جانبی گوارشی ایجاد نکند اجازه به مصرف گسترده‌تر این نوع درمان خواهد داد. این روش منجر به سنتز دو مشتق آسپیرین یعنی NCX4016 و NCX4215 (شکل ۱) شده است.

نیتروآسپیرین‌ها (Nitroaspirins)

شیمی: نیتروآسپیرین‌ها ترکیبات نیترات - استر هستند که به صورت NCX4215 و NCX4016

writhing و carrageenin rat paw oedema ناشی از اسیداستیک در موش سوری ارزیابی شده است. آسپیرین و NCX4016 هر دو ادم پنجه پای موش صحرایی ناشی از کاراجیناز را فروکش داده و اثر آنها با هم قابل مقایسه بوده است. برعکس، به نظر می‌رسد که فعالیت ضد دردی مشتقات نیترو مشخص‌تر از آسپیرین باشد.

التهابی و ضد لخته و ضد دردی آن مشخص شده است. روندهای التهاب و ترومبوژنیک بستگی به فعال شدن سلول‌های خونی مثل لوکوسیت‌ها، پلاکت‌ها و اثر آنها روی سلول‌های دیواره عروق مثل سلول‌های آندوتلیال و عضله صاف می‌باشد. نشان داده شده که NCX4016 این روندها را در سطوح مختلف تحت تاثیر قرار می‌دهد (شکل ۲). اثر ضد التهابی و ضد دردی NCX4016 به طور *in vivo* به ترتیب در مدل‌های



شکل ۲ - حوادث سلولی دخیل در روند التهاب و ترومبوژنیک. نشان داده شده که NO-aspirins فعال شدن سلول‌های خونی مثل پلاکت‌ها و لوکوسیت‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد و روی دیواره عروق مثل سلول‌های آندوتلیال و عضله صاف عروق اثر می‌کنند. خطوط توپر نشان دهنده سلول هدف یا یک مسیر هستند در حالی که خطوط شکسته نشان دهنده جایگاه‌هایی هستند که نیتروآسپیرین‌ها در آنجا مداخله می‌کنند (مثلاً دخالت در چسبیدن لوکوسیت و به هم چسبیدن پلاکت).

سیکلواکسیژناز = COX، اینترلوکین = IL، نیتریک اکسایدسینتاز قابل تحریک = iNOS

داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی = NSAIDs، پروستاگلاندین = PG

NO-aspirins و عملکرد پلاکت

فعالیت ضد پلاکتی نیتروآسپیرین‌ها یعنی NCX4215 و NCX4016 در آزمایشگاه مطالعه شده است. NCX4016 با غلظت ۱۰۰ میکرومولار حداکثر اثر مهاري روی به هم چسبیدن پلاکت‌ها ناشی از اسید آراشیدونیک داشته است در صورتی که آسپیرین همین اثر را با غلظت ۱۰ میکرومولار انجام می‌دهد. NCX4016 از لحاظ مهار کردن فعال شدن پلاکت‌ها ناشی از ترومبین به هم چسبیدن و چسبیدن به دیواره رگ‌ها کمتر از آسپیرین بوده است. چسبیدن پلاکت توسط ترومبین ($0/05U ml^{-1}$) روی فیبرینوژن هم در حضور و هم در غیاب کلسیم به طور قابل توجهی توسط NCX4016 مهار شده است ($IC_{50} = 7.3 \times 10^{-5} M$). جالب این که NCX4016 غلظت cGMP را نیز افزایش می‌دهد. در واقع وقتی پلاکت‌های انسان توسط ترومبین تحریک می‌شود افزایش قابل توجهی در cGMP دیده می‌شود. اضافه کردن NCX4016 با غلظت $1 \times 10^{-4} M$ باعث ۹۰ درصد افزایش غلظت cGMP می‌شود در حالی که غلظت مشابهی از آسپیرین اثری ندارد.

NCX4215 و NCX4016 هم چنین به صورت وابسته به دوز به هم چسبیدن پلاکت‌ها ناشی از ترومبین را در پلاکت‌های pre-treated با اسید استیل سالیسیلیک را مهار می‌کنند. این اثر توسط وکسی هموگلوبین و متیلن بلو بر می‌گردد که نشان می‌دهد اثر مهاري مربوط به آزاد شدن NO همراه با افزایش غلظت cGMP است. NCX4016 از لحاظ مهار COX یا آزادکننده NO به طور قابل توجهی قوی‌تر از NCX4215 است. فعالیت آنتی ترومبوتیک NCX4016 هم چنین از مطالعات روی مدل‌های in vivo موش صحرایی

مبتلا به ترومبوز مشاهده شده است. وقتی یک تکه نخ داخل یک مسیر خارج از بدن جریان خون قرار داده می‌شود باعث ایجاد یک ترومبوز پلاکتی می‌گردد که منجر به کاهش جریان خون از مسیر یاد شده می‌گردد. وقتی موش‌ها با آسپیرین یا NCX4016 تحت درمان قرار می‌گیرند (با دوز ۱ کی مولار به مدت ۵ روز)، این داروها تقریباً با قدرت برابر باعث کم شدن اندازه ترومبوز شده و از کاهش جریان خون جلوگیری می‌کنند.

آسپیرین و سرطان

گزارش شده که آسپیرین از طریق کم کردن فعالیت COX باعث کاهش خطر سرطان colorectal می‌شود. این تجربه روی مدل موش صحرایی آدنوکارسینوماي کولونی ارزیابی شده است. شش هفته پس از آغاز مصرف داخل کولونی تری نیتروبنزن سولفونیک اسید، هر هفته ۱۵ میلی گرم برای هر کیلوگرم وزن موش‌ها از راه داخل صفاقي آزوکسی متان تزریق شده سپس به مدت ۴ هفته موش‌ها در سه گروه متفاوت قرار گرفته و روزانه هیکول، آسپیرین (10mg/kg) یا NCX4016 (با دوز ۱ کی مولار) دریافت می‌کردند. شش هفته کبد تعداد کریپت‌ها (کیسه‌های کوچک) نابه‌جا شمرده می‌شود که اینها ضایعات پره نئوبلاستیک می‌باشند). موش‌های صحرایی که هیکول گرفته بودند در کولون آنها کانون‌هایی کریپت به تعداد 856 ± 260 موجود بوده است. آسپیرین تعداد آنها را ۶۴ درصد کم کرده، در حالی که NCX4016، ۸۵ درصد کاهش ایجاد کرده است. آسپیرین به طور مشخصی فعالیت COX-1 و COX-2 سیستمیک و سنتز پروستاگلاندین کولونی را کاهش می‌دهد ولی NCX4016 این

اثر را ندارد.

NO-aspirin چگونه NO آزاد می‌کند؟

مطالعه آزاد شدن NO توسط نیتروآسپیرین به این منظور انجام شده که آیا اثر سودمند نیتروآسپیرین و نداشتن سمیت گوارشی ارتباطی با تولید NO توسط هیدرولیز دارد یا این که مربوط به ملکول دست نخورده می‌باشد. تجربیاتی در آزمایشگاه روی عروق (مثل آئورت جدا شده موش صحرایی) انجام شده تا آزاد شدن NO توسط NO-aspirins مطالعه گردد. NCX4215 روی عروق از قبل منقبض شده توسط آدرنالین (چه از نوع دست نخورده و چه از نوع عاری از آندوتلیوم) ایجاد شل شدن وابسته به دوز کرده است ($IC_{50} = 5 \times 10^{-5} M$). اثر دارو یک دقیقه پس از افزودن آن آغاز شده و به مدت ۳۰ دقیقه ادامه داشته است. حداکثر شل شدن با دوز $1 \times 10^{-3} M$ ایجاد شده است.

آسپیرین با دوز $1 \times 10^{-6} M$ تا $1 \times 10^{-3} M$ روی شریان‌های از قبل منقبض شده توسط آدرنالین اثر شل‌کنندگی ضعیف داشته است. متیلن بلو تقریباً به طور کامل، شل شدن ناشی از NCX4215 را از بین برده که نشان می‌دهد اثر vasorelaxant دارو مربوط به آزاد شدن NO است.

هیدرولیز نیتروآسپیرین‌ها در بدن چندان سریع نیست چون هر دو نوع NCX در حیوانات آزمایشگاهی تغییری در فشارخون ایجاد نمی‌کند. در واقع تزریق داخل وریدی مقادیر زیاد NCX4215 (۱۶۶ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم) تغییر قابل توجهی در فشارخون موش‌های صحرایی بیهوش شده ایجاد نکرده در حالی که دوز اکی مولار یک دهنده استاندارد NO

(نیتروپروپوساید) باعث هیپوتانسیون مشخص می‌شود. همین طور، وارد کردن NCX4016 به داخل معده‌ای که باب‌المعده آن گره زده شده باعث بالا رفتن غلظت NO در محتویات معده و پلاسما شده است.

فارماکوکینتیک نیتروآسپیرین‌ها مطالعه شده و آزاد شدن سالیسیلات و NO بررسی شده است. به دنبال مصرف دوزهای اکی مولار آسپیرین (۲۵ mg/kg) یا NCX4016 (۶۵ mg/kg)، غلظت قابل سنجش از سالیسیلات یا NO در نمونه‌های پلاسمای موش صحرایی موجود نبوده ولی ۳ ساعت پس از مصرف آسپیرین و ۶ ساعت پس از مصرف NCX4016، حداکثر غلظت پلاسمایی سالیسیلات ایجاد شده است. ثابت سرعت حذف اسید سالیسیلات به دنبال مصرف آسپیرین یا NCX4016 در موش‌های صحرایی مشابه بوده که نشان دهنده مشابه بودن مرحله حذف این متابولیت برای هر دو دارو می‌باشد.

تولید اکسید نیتریک توسط NCX4215 نیز با استفاده از پلاکت‌های انسان و اندازه‌گیری به روش chemiluminescence ارزیابی شده است. برای اثبات این که آیا NCX4215 خود به خود NO آزاد می‌کند یا نه، این ماده با مقدار ۱ تا ۱۰۰۰ میکرومولار در ۳۷ سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه با بافر در حضور و عدم حضور پلاکت انکوبه شده آزاد شدن قابل توجهی از NO فقط در حضور پلاکت‌ها مشاهده گردیده و هیچ نوع آزاد شدن قابل سنجش از NO از محیط حاوی آسپیرین مشاهده نگردیده است. از این مطالعه روشن می‌شود که آزاد شدن NO از نیتروآسپیرین یک روند متابولیک است نه یک روند خود به خودی.

به علاوه این روند باعث تولید مقادیری از NO می شود که در تنظیم فشارخون مداخله ای نمی کند ولی می تواند در اصلاح خاصیت فارماکولوژیک نیتروآسپیرین دخیل باشد.

آیا NO-aspirins برای دستگاه گوارش سالم هستند؟

سالم بودن نیتروآسپیرین ها برای دستگاه گوارش در مطالعات مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته است. NCX4215 وقتی تا ۳۰۰ میلی گرم برای هر کیلوگرم از راه خوراکی مصرف شده آسیب قابل رویت ماکروسکوپی در معده موش صحرایی ایجاد نکرده است در حالی که دوز اکی مولار آسپیرین باعث آسیب گسترده و خونریزی شده است. فقدان آسیب GI به دنبال درمان با NCX4215 از لحاظ هیستولوژیک نیز تایید شده و حتی مصرف روزانه NCX4215 با دوز ۱۶۶ میلی گرم برای هر کیلوگرم به مدت دو هفته هیچ نوع آسیب گوارشی ایجاد نکرده است. آسپیرین بر عکس با دوزهای ۱۰۰ میلی گرم برای هر کیلوگرم ضایعات ایجاد کرده است.

NCX4016 افزایش مشخصی در جریان خون مخاطی داشته بدون این که اثری روی pH محوطه داشته باشد. در حالی که آسپیرین موضعی (۸۰ mM) در معده باعث افزایش pH داخل محوطه و اثر جزئی در جریان خون مخاط داشته است. آسپیرین پاسخ ایجاد زخم معده توسط استرس هیپوترمیک (۲۸ تا ۳۰ درجه سانتی گراد) را افزایش داده ولی NCX4016 خودش زخم زایی نداشته و اثری در پاسخ زخم زایی استرس نداشته و حتی به صورت وابسته به دوز یک اثر حفاظتی در مقابل ضایعات معده ناشی از اسید

کلر هیدریک / اتانول داشته است. این اثر نیز ضاهراً مربوط به آزاد شدن NO بوده و با این یافته تایید می شود که مصرف داخل معده NCX4016 در موش های صحرایی باعث افزایش NO در محتویات معده و سرم می شود. دلایل زیادی وجود دارد که چسبیدن لوکوسیت های پلی مورفونوکلئر یکی از مکانیسم هایی است که آسپیرین و سایر NSAIDs از طریق آن به آندوتلیوم آسیب می زنند. چسبیدن لوکوسیت توسط پیش مداوا با NCX4016 تحت تاثیر قرار نمی گیرد در حالی که آسپیرین موجب افزایش پنج برابر در چسبیدن نوتروفیل ها می شود. در ضمن NCX4016 باعث مهار آپوپتوزیس ناشی از TNF- α (فاکتور نکروز تومور) می شود.

مشنقات NO-aspirin نه تنها برای GI سالم هستند بلکه می توانند چسبیدن لوکوسیت ها را مهار و در نتیجه حساسیت معده به آسیب ناشی از شوک را کاهش دهند.

آسیب معده ناشی از شوک هموراژیک تا حدی مربوط به مکانیسم های وابسته به نوتروفیل است. مصرف خوراکی NCX4016 یا گلیسرین تری نیترات یا تخلیه نوتروفیل های جریان خون توسط سرم آنتی نوتروفیل، به طور قابل توجهی وسعت آسیب معده ناشی از شوک هموراژیک را کم می کند در صورتی که آسپیرین اثری ندارد. پیش مداوا با NCX4016 و سرم ضد نوتروفیل موجب حفظ قابل توجه جریان خون معده در ضمن شوک می شود.

آیا مهار COX مسئول همه اثرات ناشی از نیتروآسپیرین است؟
احتمالاً برای فعالیت بیولوژیک

نیستند. برای تایید بیشتر این موضوع که همه فعالیت آسپیرین و NCX ارتباط به مهار COX ندارد مقایسه‌ای بین آسپیرین و NCX4016 در مدل حیوانی کانسروکولون انجام شده که نشان داده شده آسپیرین موثر است.

نتایج نشان داده که اثر ناشی از NCX4016 مستقل از مهار PG می‌باشد. اطلاعات موجود نشان می‌دهند که اثرات سلولی نیتروآسپیرین‌ها (غیر از مهار COX) می‌تواند به قسمت NO آن نسبت داده شود.

نتیجه‌گیری و چشم‌انداز آینده

نیتروآسپیرین‌ها گروه جدیدی از ترکیبات هستند که اثر مهار فعالیت COX و آزاد کردن NO را توأم دارند. آزاد شدن NO هم مسؤول سالم بودن آنها برای دستگاه گوارش و هم مسؤول توانایی آنها برای مداخله در روندهای پاتولوژیک می‌باشد که به احتمال زیاد از طریق دو مکانیسم متفاوت و جداگانه ایجاد می‌شوند. به علاوه مصرف مکرر NCX4016 منجر به مهار کامل تولید پروستاگلین‌ها پس از ۵ یا ۶ روز درمان می‌شود که قابل مقایسه با اثرات دوز کم آسپیرین است. فقدان اثرات جانبی برای NCX همراه با توانایی‌های فارماکولوژیکی مزایا، احتمال پیدایش کاربردهای بیشتری را برای نیتروآسپیرین‌ها فراهم می‌کند که بایستی دقیقاً تجسس شوند.

منبع:

1. Soldato PD, Sorrentino R, Pinto A. NO-aspirins: a class of New anti-inflammatory and antithrombotic agents. TIPS. 1999; 20: 319 - 323

نیتروآسپیرین بیش از یک مکانیسم مسؤول می‌باشد. NCX4215 ظاهراً فاقد فعالیت مهار روی پروستاگلاندین است ولی NCX4016 ساخته شدن پروستاگلاندین را از راه خوراکی و غیر خوراکی مهار می‌کند. توانایی مهار پروستاگلاندین توسط آسپیرین و NCX4016 در بافت‌های مختلف مثل معده و پلاسما شبیه هم است که نشان دهنده این واقعیت است که NCX4016 دورنمای فارماکولوژیک مشابه آسپیرین دارد. دلایلی وجود دارند که نیتروآسپیرین‌ها اثراتی را غیر از مهار COX اعمال می‌کنند. به عنوان مثال، نشان داده شده که تولید زیاد NO آندوژن توسط NCX4215، داون رگولیت (تنظیم کاهشی) می‌شود و یک اثر مهار روی فعالیت T-لنفوسیت‌ها، تحریک آپوپتوزیس و غیره برای NCX4016 شرح داده شده است. در هر صورت سؤالی که مطرح است این است که چه مقدار از اثرات فارماکولوژیک نیتروآسپیرین‌ها مربوط به مهار فعالیت COX است؟ پاسخ به این سؤال آسان نیست و حتی برای خود آسپیرین مکانیسم‌های چندی متصور است. بدیهی است که فعالیت ضد دردی و ضد التهابی NCX4016 با دوزی ایجاد می‌شود که پروستاگلاندین‌ها را مهار می‌کند. این یافته که آسپیرین از لحاظ مهار PG قوی‌تری از لحاظ اثر ضد دردی ضعیف‌تر است می‌تواند گویای این واقعیت باشد که برای ایجاد اثر ضد دردی توسط NCX مکانیسم‌هایی غیر از مهار COX وجود دارد.

به طوری که اشاره شد برای آسپیرین نیز مکانیسم‌های دیگری مثل مهار iNOS متصور است ولی این اثرات در خارج از بدن و با دوز زیاد ایجاد می‌شوند که قابل دسترسی در داخل بدن