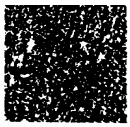


مهار کاتپسین G لکوسیت انسان بوسیله داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی

ترجمه: علیرضا فرمانیان

دانشجوی سال چهارم داروسازی - دانشگاه علوم پزشکی تهران

خلاصه:

کاتپسین Gهای لکوسیت انسان فاکتورهای فعالی در فاز فعال التهاباتی مانند آرتریت روماتوئید، آمفیزم و آسیب گلومرولی هستند. داروهای ضد التهابی غیراستروئیدی ($NSAID_s$) بطور گسترده‌ای برای درمان این بیماریهای التهابی مصرف می‌شوند. مکانیسم عمل $NSAID_s$ برای درمان بیماریهای التهابی، بویژه بیماریهایی مانند آرتریت روماتوئید، بصورت مهارکننده‌های سنتز پروستاگلاندین شناخته شده است. اما مهار فعالیتهای کاتپسین Gهای لکوسیت انسان بوسیلهٔ داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی، مانند اثرات شناخته شدهٔ فارماکولوژیکی (مهار سیکلواکسیژناز) این داروها نبوده است. در بین آنها بویژه سولینداک، سالیسیلات، فنیل بوتازون، اکسی‌فن بوتازون و اسید سالیسیلوریک کاتپسین G های لکوسیت انسان را بطور موثری مهار کردند. IC_{50s} برای داروها بترتیب عبارت بودند از ۴/۳mM ، ۱۴/۳mM ، ۶/۵mM ، ۱۱mM ، ۱۵mM. داروهایی که ساختمان شیمیایی و درجهٔ اثر مهاری مشابه روی سیکلواکسیژناز دارند، درجهٔ متفاوتی از اثر مهاری بر کاتپسین G نشان دادند یا فاقد چنین اثری بودند. امکان دارد این اثر مهاری، در کنار مهار سیکلواکسیژناز در مسیر سنتز پروستاگلاندین، دیگر اثر مفید ضدالتهابی $NSAID_s$ از طریق محافظت مستقیم در مقابل انهدام بافتی در بیماریهای التهابی باشد.

مقدمه:

کاتپسین G ها، سرین پروتئازهای خنثی کاتیونی، در گرانول آزوروفیل انسان قرار دارند. کاتپسین G ها با خواص آنزیمی خود میکروارگانیسمها رامنهدم می‌کنند و لذا فعالیت ضدمیکروبی دارند، اما عدم تعادل بین فعالیت کاتپسین G و اثر مهاری (α_1-protease inhibitor) یا α_2-MG (α_2-macroglobulin) باعث تخریب بافت‌های طبیعی می‌شود و می‌تواند موجب آرتریت روماتوئید و بسیاری دیگر از بیماریهای التهابی شود. از $NSAID_s$ بخاطر اثرات ضد دردی، ضد تب و ضد التهابیشان در درمان این بیماریهای التهابی استفاده شده است. مکانیسم عمل شناخته شدهٔ $NSAID_s$ مهار سیکلواکسیژناز در مسیر سنتز پروستاگلاندین است. ولی ممکن است $NSAID_s$ فعالیت کاتپسین G را نیز مهار کنند که احتمالاً تا اندازه‌ای فاکتور اتیولوژیک مستقیم در این مراحل التهابی است. در این گزارش اثر مهارکنندگی دسته‌های مختلف $NSAID_s$ برفعالیت کاتپسین G بررسی شده است.

● **مشخص شده است که اثر ضدالتهابی داروهای ضد التهابی غیراستروئیدی مربوط به مهار سیکلواکسیژناز در مسیر سنتز پروستاگلاندین است.**

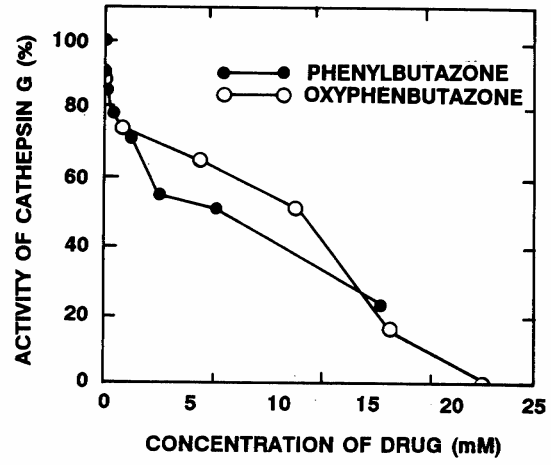
تخلیص و شناسایی کاتپسین G:

کاتپسین G های نوتروفیلهای انسان از خون‌دهنده‌های سالم بوسیلهٔ روند خالص‌سازی دو مرحله‌ای شامل Ultrogel ACA ٥٤ ژل فیلتراسیون و کروماتوگرافی تعویض یونی CM-Sephadex تخلیص می‌شوند. این آنزیمها توسط اوزان مولکولیشان پس از تخلیص با PAGE و واکنشهای متقاطع باآنتی‌بادی ضد کاتپسین انسانی شناسایی می‌شوند.

● **حدس زده می‌شود که گروه هیدروکسیل سالیسیلات ممکن است با گروه هیدروکسیل جایگاه فعال کاپتسین G رقابت کند.**

سنجش کاتپسین G:

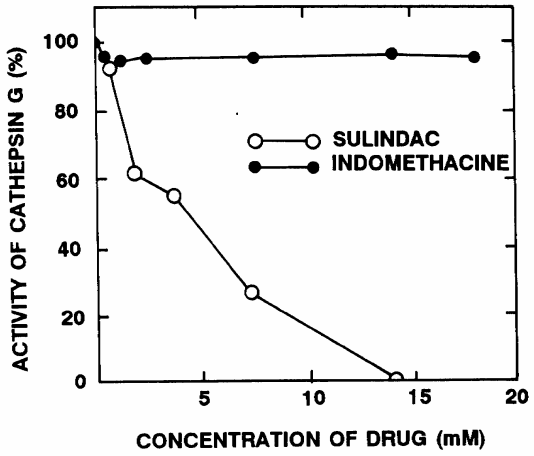
$NSAID_e$ در محیطی که شامل ١٥٠mM کلرورسدیم، ١٠٠mM Tris-cl (PH = ٧/٣) و ١٢/٥٪ DMSO بود بمدت ٣٠ دقیقه باکاتپسین G نوتروفیل انسان پره‌انکوباسیون شده و واکنش توسط افزودن SAPNA (N- سوکسینیل - p-phe-pro-Ala-Ala- نیتروآنیلید) آغاز شد. فعالیت با استفاده از اسپکتروفتومتر و بوسیلهٔ سنجش مقدار P-نیتروآنیلید آزاد شده از سوبسترای مصنوعی توسط اندازه‌گیری جذب در ٤١٠nm تعیین (اندازه‌گیری) شده است.



(شکل ١)

نتایج:

٥mM از ایبوپروفن، که یکی از مشتقات آریل آلکانوئیک اسید است، ٤٨٪ فعالیت کاتپسین G را

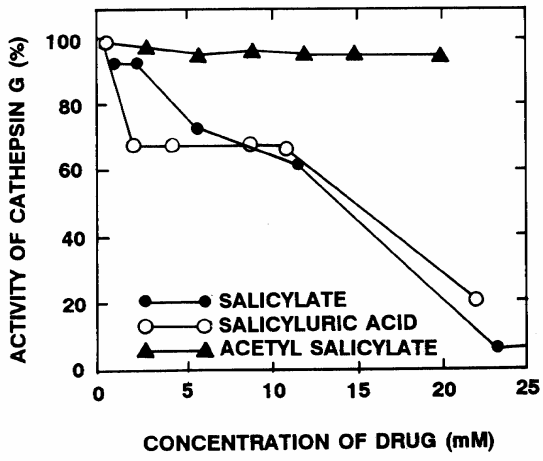


(شکل ۲)

مهار کرد. اما کتوپروفن و ناپروکسن که آنها هم از مشتقات آریل آلکانوئیک هستند فعالیت کاتپسین G را به هیچ عنوان مهار نکردند. فنیل بوتازون و اکسی‌فن‌بوتازون، از مشتقات پیرازولون، فعالیت کاتپسین G را مهار کردند.

IC_{50} فنیل بوتازون و اکسی‌فن‌بوتازون بترتیب برابر ۶/۵mM و ۱۱mM بودند. مشتقات ایندول، سولینداک فعالیت کاتپسین G را بطور بسیار موثری مهار کرد، اما ایندومتاسین این اثر را نداشت.

IC_{50} سولینداک ۴/۳mM بود و مقدار برابر



(شکل ۳)

۱٤mM از آن تقریباً بطور کامل فعالیت کاتپسین G را مهار کرد. در بین سالیسیلاتها، اسید سالیسیلیک و اسید سالیسیلوریک (متابولیت فعال آسپیرین) فعالیت کاتپسین G را بطور ملایم مهار کردند. IC_{50} آنها بترتیب ۸/۳mM و ۱۵mM بودند.

اما آسپیرین (فرم استیلهٔ سالیسیلات) فعالیت کاتپسین G را مهار نکرد.

بحث:

$NSAID_s$ همه جا برای درمان آرتریت روماتوئید و التهاب غیرعفونی مصرف شده‌اند. این عوامل نه فقط درد و التهاب را بهبود می‌بخشند بلکه به هموستاز غضروف مفصلی نیز کمک می‌کنند. مشخص شده است که اثر ضدالتهابی $NSAID_s$ مربوط به مهار سیکلواکسیژناز در مسیر سنتز پروستاگلاندین است. اما ممکن است که مهار کاتپسین G نیز که بعنوان یک آنزیم برای انهدام بافتی در مکانهای التهاب شناسایی شده است، در اثر سودمند این داروها دخیل باشد. در بین این داروها، سولینداک قویترین اثر مهاری را بر کاتپسین G نوتروفیل انسان با IC_{50} برابر ٤/۳mM نشان داده است (شکل ۲). فنیل بوتازون، اکسی‌فن بوتازون، سالیسیلات و اسید سالیسیلوریک نیز مهارکننده‌های موثر کاتپسین G بوده‌اند. غلظتی از این داروها که جهت مهار لازم است بالاتر از غلظت‌های درمانی پلاسمایی است، اما (شاید) در بدن از آنجا که غلظت داروها در محل التهاب می‌تواند بمیزان بسیار بالاتری در مقایسه با پلاسما نگهداری شود، موثر باشند. سالیسیلات‌ها تمایل کاملاً متفاوتی به (مهار) فعالیت کاتپسین G در مقایسه با مهار سیکلواکسیژناز نشان می‌دهند. سالیسیلات فعالیت کاتپسین G را مهار کرده ولی آسپیرین مهار نکرده است. (شکل ۳). اگر ساختمان شیمیایی کاتپسین G و سالیسیلات مقایسه شوند، گروه هیدروکسیل موقعیت ortho حلقهٔ بنزنی‌سالیسیلات دست نخورده است اما همان گروه در آسپیرین استیله‌شده‌می‌باشد. درنتیجه حدس زده می‌شود که گروه هیدروکسیل سالیسیلات ممکن است با گروه هیدروکسیل جایگاه فعال کاتپسین G رقابت کند. این مکانیسم محتمل را می‌توان در مورد اسید سالیسیلوریک نیز در نظر گرفت، زیرا این ماده نیز واجد گروه هیدروکسیل در موقعیت ortho حلقهٔ آروماتیک است. حتی با اینکه آسپیرین در خارج از بدن هیچگونه اثر مهارکنندگی برفعالیت کاتپسین G ندارد، ممکن است از این طریق اثر فارماکولوژیکی داشته باشد زیرا در پلاسما به سالیسیلات و اسید سالیسیلوریک تبدیل می‌شود. از مشتقات ایندول، سولینداک و ایندومتاسین عواملی هستند که بعنوان مهارکننده‌های سیکلواکسیژناز بخوبی شناسایی شده‌اند، اما از لحاظ اثرات مهاری بر فعالیت کاتپسین G متفاوتند. برعکس سالیسیلات‌ها، تفسیر مکانیسم عمل این عوامل مشکل است زیرا ساختمان آنها بسیار پیچیده‌تر از سالیسیلات‌هاست. در مجموع، این حقیقت که داروهای متعلق به یک گروه دارویی درجات متفاوتی از اثر مهاری روی فعالیت کاتپسین G دارند، می‌تواند اثر ضد التهابی دیگری را برای $NSAID_s$ مطرح کند و آن مهار کاتپسین G است که می‌تواند تا حدودی در حفاظت از تخریب بافت در محلهای التهاب دخیل باشد.

مأخذ:

Sungjun, B. etal. Inhibition of Human Leukocyte Cathepsin G by NSAID Korean J. of pharmacology, 26: 51-54 , 1990