

## **ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КОМБІНАЦІЇ ГЛЮКОЗАМІНУ З КЕТОПРОФЕНОМ У ФОРМІ КРЕМ-ГЕЛЮ НА СПОНТАННУ БОЛЬОВУ РЕАКЦІЮ В ЩУРІВ**

© Н. В. Давішня, І. А. Зупанець, С. К. Шебеко

*Національний фармацевтичний університет, Харків*

**Резюме:** дослідження анальгетичної активності комбінації глюкозаміну з кетопрофеном у формі крем-гелю було проведено на моделі гострого експериментального артриту в щурів. За отриманими даними, досліджуваний препарат чинить позитивний вплив на перебіг спонтанної больової реакції в щурів та має виражену анальгетичну активність.

**Ключові слова:** глюкозамін, кетопрофен, крем-гель, спонтанна больова реакція, анальгетична активність.

**Вступ.** Остеоартроз (ОА) – хронічне дегенеративно-дистрофічне захворювання суглобів, що характеризується прогресуючою деструкцією суглобового хряща, проліферативною реакцією хрящової і кісткової тканин і супроводжується реактивним синовіітом [4, 8]. Дане захворювання є одним з найпоширеніших у структурі патології опорно-рухової системи: розповсюдженість ОА в популяції складає до 14 % дорослого населення [11]. Відповідно до Міжнародної класифікації хвороб X перегляду, дану патологію розділяють на: поліартроз (включає артроз більше як одного суглоба), коксартроз (артроз кульшового або тазостегнового суглоба), гонартроз (артроз колінного суглоба), артроз першого зап'ястково-п'ясткового суглоба та ін. Частота уражень окремих суглобів при ОА не однакова [5]. Суглобовий синдром при ОА характеризується наявністю больового синдрому – біль посилюється в другій половині дня, до вечора, після фізичного навантаження [8]. З метою покращення якості життя пацієнта раціонально використовувати препарати, що могли б корегувати больовий синдром, такі як ненаркотичні анальгетики та нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) [4]. Але усувати тільки больовий синдром при остеоартрозі недостатньо, оскільки захворювання полягає в порушенні метаболізму хрящової тканини. Тому на сьогодні, за рекомендацією «Європейської антиревматичної ліги» (EULAR), у схеми лікування пацієнтів з ОА включено симптоматичні препарати уповільненої дії (глюкозамін (ГА), хондроїтину сульфат (ХС), діацереїн, неомілювані сполуки авокадо/сої, гіалуронова кислота) [13]. А комбінування двох вищеописаних груп дозволяє впливати як на больовий синдром при даній патології, так і на метаболізм суглобового хряща [1, 2]. Біль при остеоартрозі є постійним і може турбувати хворого навіть вночі, тому необхідна лікарська форма, що мала б зручне використання та високу швидкість знеболювання в ділянці нанесення [1].

Такі топічні лікарські форми, як гель, крем та крем-гель мають зазначені властивості [1]. Метою даного дослідження стало встановлення анальгетичних властивостей нового комбінованого протиартрозного препарату – комбінації глюкозаміну з кетопрофеном, співвідношенням 2,5:1, в формі крем гелю (Г/К крем-гель), при відтворенні спонтанної больової реакції у щурів, на тлі розвитку гострого артриту колінного суглоба.

**Методи дослідження.** Дослідження впливу препарату Г/К крем-гель на перебіг спонтанної больової реакції за умов розвитку гострого експериментального артриту проводили на 40 білих нелінійних щурах, яких розподіляли на 4 дослідні групи по 10 тварин:

1 група – тварини з артритом, що нашкірно отримували Г/К крем-гель в умовно-терапевтичній дозі 50 г;

2 група – тварини з артритом, що нашкірно отримували Фастум гель в еквівалентній дозі;

3 група – тварини з артритом, що нашкірно отримували Глюкозамін крем-гель в еквівалентній дозі;

4 група – тварини з артритом, що нашкірно отримували препарат Хондроксид в еквівалентній дозі.

Всі піддослідні тварини утримувались у віварії ЦНДЛ Національного фармацевтичного університету, згідно із стандартними санітарними нормами, на необхідному харчовому раціоні [7]. Усі дослідження проводились у відповідності з директивою Ради ЄС 86/609 ЄЕС від 24 листопада 1986 р. про дотримання законів, постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети [14]. На початку експерименту всіх тварин піддавали наркозу, шляхом внутрішньоочеревинного введення розчину фенобарбіталу у дозі 40 мг/кг, при цьому орієнтовна тривалість наркозного сну складала 1,0-1,5 години [12].

Після втрати свідомості у всіх тварин проводили видалення волосяних покривів на площі приблизно

2 см<sup>2</sup> на ділянках шкіри в області колінних суглобів на обох задніх лапах. Далі негайно проводили відтворення гострого артриту колінного суглоба на правій задній лапі шляхом внутрішньосуглобового введення 25 мкл 2% розчину λ-карагеніну (Sigma, США), виготовленого асептично на фізіологічному розчині. У колінний суглоб лівої задньої лапи вводили еквівалентну кількість фізіологічного розчину [6, 10, 12].

Через 5 годин після відтворення патології і далі щоденно протягом 5 діб у всіх тварин проводили одноразове нанесення дослідних м'яких форм на обидві задні лапи, шляхом нашкірних аплікацій в еквівалентних умовно-терапевтичних дозах по 50 мг. Препарати наносили на площу приблизно 2 см<sup>2</sup> в ділянці колінних суглобів на обох задніх лапах при ретельному втиранні та виключенні можливості їх злизування з поверхні шкіри тваринами. Вимірювання інтенсивності спонтанної больової реакції проводили станом на 1, 3 та 5 добу дослідження за 30 хвилин та через 1 годину після нанесення дослідних засобів. Для цього кожну тварину поміщали до фіксуючої камери «тестера інвалідності» – Incapacitance Tester MkV («Linton Instrumentation», Великобританія) та витримували там протягом 5 хвилин для акліматизації, поки тварина не адаптується та прийме зручне положення. При цьому задні кінцівки щура повинні були знаходитись на навантажувальних пластинах приладу, кожна окремо, а передні кінцівки – на похилій передній стінці камери [6, 15, 16]. Таким чином, вся маса тварини перерозподілялась через задні кінцівки на вагові датчики «тестеру інвалідності». Вимірювання перерозподілу маси тіла тварини проводили тричі з інтервалом у 5 секунд та фіксували середнє значення маси тіла, що приходиться на праву та ліву кінцівку окремо. Далі розраховували індекс інвалідності (II) [16, 17]:

$$II = \frac{M_{пк}}{M_{пк} + M_{лк}}$$

де II – індекс інвалідності (у.о.);

M<sub>пк</sub> – маса тіла тварини, що розподіляється на праву (пошкоджену) кінцівку;

M<sub>лк</sub> – маса тіла тварини, що розподіляється на ліву (здорову) кінцівку.

Анальгетичну активність визначали за здатністю досліджуваних засобів зменшувати інтенсивність спонтанної больової реакції у тварин [12], що проявлялось у збільшенні II у порівнянні з вихідними даними та виражали у відсотках:

$$AA = \frac{II_2 - II_1}{II_1} \times 100\%$$

де AA – анальгетична активність у %;

II<sub>1</sub> – значення індексу інвалідності у групі дослідних тварин до введення лікарського засобу;

II<sub>2</sub> – значення індексу інвалідності у групі дослідних тварин після введення лікарського засобу.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента й непараметричних методів аналізу (Mann-Whitney U Test) за допомогою комп'ютерних програм STATISTICA 7.0 та MS Excel 2007 [9] і представляли у вигляді порівняльних таблиць із результатами різних груп.

**Результати й обговорення.** Результати дослідження впливу Г/К крем-гелю на інтенсивність спонтанної больової реакції у щурів з гострим карагеніновим артритом, наведені у таблиці 1, свідчать, що досліджувана комбінація чинить виражену анальгетичну дію, оскільки значно збільшує II протягом всього періоду спостережень.

Найвищими в представленому дослідженні були такі показники AA: станом на 1 добу досліджень – 41,79 %, на 3 добу – 47,92 % та на 5 добу 62,23 %, котрі за виразністю дії, починаючи з 3 доби, достовірно перевищували препарати порівняння.

Високий рівень AA досліджуваного препарату пояснюється тим, що комбінація глюкозаміну з кетопрофеном має як анальгетичну і протизапальну дію, так і здатність поліпшувати метаболізм суглобового хряща, за рахунок усунення недостатності глюкозаміногліканів [2]. Слід відмітити, що збільшення рівня AA дослідного препарату пояснюється не тільки потенційним впливом його повторних нанесень, але й зниженням рівня II у процесі експерименту, що говорить про зменшення спонтанних больових відчуттів тварин внаслідок згасання патофізіологічних проявів гострого артриту.

Аналогічна картина, але при меншому ступені виразності, спостерігалась під впливом референс-препарату Фастум гель. Так, рівень його AA на 1 добу спостережень склав 36,73 %, на 2 добу – 35,34 % і на 5 добу – 42,05 %. Слід відмітити, що за рівнем AA на 3 та 5 добу дослідження Фастум гель вірогідно поступався активності досліджуваної комбінації. Дана ситуація пояснюється явищем синергізму при застосуванні НПЗП та хондропротекторів [2].

При застосуванні препарату порівняння Глюкозамін крем-гель з 1 по 5 добу спостерігався мінімальний рівень анальгетичної активності, який наприкінці експерименту склав 17,06 %. Низький рівень анальгетичної активності даного препарату порівняння є очікуваним, оскільки монопрепарати хондропротекторів не володіють прямою анальгетичною активністю.

Щодо препарату порівняння Хондроксид, його анальгетична активність є трохи вищою і достовірно відрізняється від Глюкозамін крем-гелю. На 5 добу вона становить 21,07 %. Вірогідно, така ситуація пояснюється наявністю допоміжної речовини диметилсульфоксиду у складі препарату, який має протизапальну та місцевоанестезуючу дію [3].

**Таблиця 1.** Вплив препарату Г/К крем-гель та референтних об'єктів на інтенсивність спонтанної больової реакції в щурів з гострим карагеніновим артритом ( $M \pm m$ ,  $n=40$ )

| Об'єкт дослідження   | Індекс інвалідності, ум. од. |                                   | Анальгетична активність, % |
|----------------------|------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|
|                      | вихідні дані                 | 2 години після введення препарату |                            |
| 1 доба               |                              |                                   |                            |
| Г/К крем-гель        | 0,251±0,007                  | 0,354±0,009 <sup>1) #</sup>       | 41,79±3,62 <sup>1) #</sup> |
| Фастум гель          | 0,247±0,006                  | 0,337±0,007 <sup>1) #</sup>       | 36,73±1,60 <sup>1) #</sup> |
| Глюкозамін крем-гель | 0,253±0,006                  | 0,277±0,005                       | 9,88±1,29                  |
| Хондроксид           | 0,248±0,005                  | 0,277±0,005                       | 11,92±1,37                 |
| 3 доба               |                              |                                   |                            |
| Г/К крем-гель        | 0,189±0,005                  | 0,279±0,007 <sup>1) #</sup>       | 47,92±3,12 <sup>1) #</sup> |
| Фастум гель          | 0,183±0,004                  | 0,247±0,006 <sup>1) #</sup>       | 35,34±1,46 <sup>1) #</sup> |
| Глюкозамін крем-гель | 0,185±0,004                  | 0,210±0,005                       | 13,43±1,14 <sup>*</sup>    |
| Хондроксид           | 0,187±0,005                  | 0,224±0,006                       | 19,65±0,83                 |
| 5 доба               |                              |                                   |                            |
| Г/К крем-гель        | 0,295±0,005                  | 0,478±0,005 <sup>1) #</sup>       | 62,23±2,61 <sup>1) #</sup> |
| Фастум гель          | 0,293±0,005                  | 0,416±0,007 <sup>1) #</sup>       | 42,05±2,00 <sup>1) #</sup> |
| Глюкозамін крем-гель | 0,295±0,007                  | 0,344±0,005                       | 17,06±1,67                 |
| Хондроксид           | 0,289±0,005                  | 0,350±0,006                       | 21,07±1,16 <sup>*</sup>    |

Примітки:

- 1) <sup>\*</sup> – відмінності вірогідні відносно тварин, що отримували препарат порівняння Фастум гель ( $p \leq 0,05$ );
- 2) <sup>\*</sup> – відмінності вірогідні відносно тварин, що отримували препарат порівняння Глюкозамін крем-гель ( $p \leq 0,05$ ).
- 3) <sup>#</sup> – відмінності вірогідні відносно тварин, що отримували препарат порівняння Хондроксид ( $p \leq 0,05$ ).

**Висновки.** 1. Комбінація глюкозаміну з кетопрофеном в формі крем-гелю при нашкодженні проявляє виражений анальгетичний вплив за умов розвитку спонтанної больової реакції у щурів з гострим карагеніновим артритом.

2. За ступенем анальгетичного впливу досліджувана комбінація глюкозаміну з кетопрофеном вірогідно перевершує активність препарату порівняння Фастум гель на 3 та 5 добу, а також інших референс зразків протягом всього дослідження.

#### Література

1. Алексеева Л. И. Применение локальных средств в лечении остеоартроза / Л. И. Алексеева, Н. Г. Кашеварова // РМЖ. – 2008, № 24. – С. 1622-1628.
2. Зупанец И. А. Клинико-фармацевтические аспекты современных комбинированных хондропротекторов / И. А. Зупанец, С. К. Шебеко // Consilium medicum – 2010. – Том 4 № 4. – С. 3–7.
3. Інструкція для медичного застосування препарату „Хондроксид” [Електронний ресурс]. – Наказ МОЗ України № 159 від 05.03.2014 – Режим доступу : <http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=34324>
4. Коваленко В. Н. Остеоартроз. Практична настанова. / В. Н. Коваленко, О. П. Борткевич. – 3-тє вид., допов., зі змінами – К. : МОПОН., 2010. – 608 с.
5. Международная классификация болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://mkb-10.com/>
6. Миронов А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / А. Н. Миронов. – 2012. – 944 с.
7. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика (видання офіційне) / О. Стефанов, Т. Бухтіарова, В. Коваленко [та ін.] – К. : Моріон, 2009. – С. 37-68.
8. Остеоартроз: консервативная терапия : монография / под ред. Н. А. Коржа, Н. В. Дедух, И. А. Зупанца. – Х. : Золотые страницы, 2007. – 424 с.
9. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – 3-е изд. – М. : МедиаСфера, 2006. – 312 с.
10. Anti-inflammatory synergy of MEN16132, a kinin B2-receptor antagonist, and dexamethasone in carrageenan-induced knee joint arthritis in rats / C. Valenti, S. Giuliani, C. Cialdai [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 2010. – Vol. 161. – P. 1616-1627.
11. Data and statistics - Geneva, World Health Organization 2011 (<http://www.euro.who.int/ru/what-we-do/health-topics/Life-stages/healthy-ageing/data-and-statistics/10-facts-on-healthy-ageing-in-europe>)

12. Effect of intra-articular 4-(S)-amino-5-(4-{4-[2,4-dichloro-3-(2,4-dimethyl-8-quinolyloxymethyl)phenylsulfonamido]-tetrahydro-2H-4-pyran-2-yl} carbonyl) piperazine-5-oxopentyl] (trimethyl)ammonium chloride hydrochloride (MEN16132), a kinin B2 receptor antagonist, on nociceptive response in monosodium iodoacetate-induced experimental osteoarthritis in rats / C. Cialdai, S. Giuliani, C. Valenti [et al.] // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2009. – Vol. 331 (3). – P. 1025-1032.
13. EULAR evidence based recommendations for the diagnosis of knee osteoarthritis / W. Zhang, M. Doherty, G. Peat [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* – 2009. – Vol. 68, № 13. – P. 141.
14. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
15. Kissin E. Y. The effects of intraarticular resiniferatoxin in experimental knee-joint arthritis / E. Y. Kissin, F. C. Freitas, I. Kissin // *Anesthesia & Analgesia*. – 2005. – Vol. 101. – P. 1433–1439.
16. McDougall J. Vasoactive intestinal peptide (VIP) is a modulator of joint pain in a rat model of osteoarthritis / J. J. McDougall, L. Watkins, Z. Li // *Pain*. – 2006. – Vol. 123 – P. 98–105.
17. Regulation of pain sensitivity in experimental osteoarthritis by the endogenous peripheral opioid system / J. J. Inglis, K. E. McNamee, Sh.-L. Chia [et al.] // *Arthritis & Rheumatism*. – 2008. – Vol. 58, No. 10. – P. 3110–3119.

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМБИНАЦИИ ГЛЮКОЗАМИНА С КЕТОПРОФЕНОМ В ФОРМЕ КРЕМ-ГЕЛЯ НА СПОНТАННУЮ БОЛЕВУЮ РЕАКЦИЮ У КРЫС**

**Н. В. Давишня, И. А. Зупанец, С. К. Шебеко**

*Национальный фармацевтический университет, Харьков*

**Резюме:** исследование анальгетической активности комбинации глюкозамина с кетопрофеном в форме крем-геля было проведено на модели острого экспериментального артрита у крыс. По полученным данным, исследуемый препарат оказывает положительное влияние на течение спонтанной болевой реакции у крыс и имеет выраженную анальгетическую активность.

**Ключевые слова:** глюкозамин, кетопрофен, крем-гель, спонтанная болевая реакция, анальгетическая активность.

## **THE RESEARCH OF INFLUENCE OF COMBINATION GLUCOSAMINE WITH KETOPROFEN IN THE FORM OF A CREAM-GEL TO SPONTANEOUS PAIN RESPONSES IN RATS**

**N. V. Davishnia, I. A. Zupanets, S. K. Shebeko**

*National University of Pharmacy, Kharkiv*

**Summary:** the study of analgesic activity of combination of glucosamine with ketoprofen in the form of a cream-gel was conducted on the model of acute experimental arthritis in rats. According to received information the studied drug has a positive effect on the course of spontaneous pain response in rats and has a pronounced analgesic activity.

**Key words:** glucosamine, ketoprofen, cream-gel, spontaneous reaction of pain, analgesic activity.

Отримано 24.03.2015