

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ТА КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Рекомендована д.м.н., професором І.А.Зупанцем

УДК 615.015.23 + 615.099]:[615.21:615.451.35]

ПОРІВНЯЛЬНЕ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ВИВЧЕННЯ НАЛОКСОНУ ПРИ ІНТРАНАЗАЛЬНОМУ ТА ІН'ЄКЦІЙНОМУ ВВЕДЕННІ ЩУРАМ

О.В.Тимченко, Л.О.Чайка, М.О.Ляпунов, Т.В.Андріанова

ДП «Державний науковий центр лікарських засобів та медичної продукції»

Досліджені фармакологічні ефекти налоксону при інтраназальній інстиляції щурам. Доведено, що налоксон при інтраназальній інстиляції виявляє характерний антагонізм щодо специфічної дії морфіну. За виразністю фармакологічних ефектів інтраназальне введення налоксону є співставним з його внутрішньом'язовою ін'єкцією. Отримані дані свідчать про перспективність подальшої розробки нової лікарської форми – назального спрею налоксону як засобу невідкладного усунення симптомів гострого наркотичного передозування.

Антагоніст опіоїдних рецепторів налоксон є одним з найбільш ефективних засобів невідкладного попередження тяжких ускладнень та летальності при передозуванні опіатів. Налоксон усуває такі токсичні і небезпечні ефекти наркотиків, як пригнічення дихання, гіпотонія, брадикардія, пригнічення свідомості і попереджує летальні наслідки опіоїдної інтоксикації [2, 4, 10].

Традиційно налоксон внаслідок його інактивації у шлунково-кишковому тракті застосовується виключно ін'єкційно (внутрішньом'язово та внутрішньовенно) у формі розчину для ін'єкцій 0,4 мг/мл. Проте внутрішньовенне введення не завжди є можливим поза межами лікарні, а внутрішньом'язове – потребує часу для всмоктування діючої речовини, що відтерміновує розвиток ефекту. В останні роки для потреб системної терапії, у тому числі при гострих станах, дедалі ширше використовуються інтраназальні інстиляції. Доведено, що слизова оболонка носової порожнини завдяки достатньо великій площі всмоктування (до 170 см²) та рясній васкуляризації забезпечує швидке надходження лікарських речовин у системний кровоток з досягненням концентрацій, співставних із такими при ін'єкційному введенні [7, 15]. Останніми роками отримані дані щодо ефективності інтраназального введення налоксону для усунення передозування опіатів [9, 13, 14, 15].

Метою даного дослідження було порівняльне вивчення фармакологічної активності налоксону при інтраназальній інстиляції та ін'єкційному введенні.

Об'єктом дослідження була оригінальна лікарська форма налоксону – назальний спрей, розроблений під керівництвом доктора фармацевтичних наук професора М.О.Ляпунова (ДНЦЛЗ, м. Харків). Дослідження проведені у порівнянні з препаратом «Налоксон розчин для ін'єкцій» (Польща).

Матеріали та методи

Фармакологічну протиопіоїдну активність налоксону оцінювали за впливом на специфічні ефекти морфіну: І серія – по усуненню депривуючої дії токсичної дози морфіну (100 мг/кг), ІІ серія – за ступенем нівелювання аналгетичної дії терапевтичної дози морфіну (10 мг/кг) [1, 3]. Досліди проведені на 160 нелінійних щурах-самцях з масою тіла 160-320 г. Морфін-індуковану седацію та аналгезію викликали одноразовим підшкірним введенням 1% розчину морфіну гідрохлориду. Налоксон вводили одноразово безпосередньо після введення морфіну. Дози морфіну та налоксону обрані на підставі даних літератури [8, 11] та експериментально у серії попередніх дослідів.

В І серії досліди виконані на 64 щурах (8 груп): 1 група – інтактні (контроль І); 2 група – неліковані тварини з токсичною седацією (контроль ІІ); 3, 4 та 5 групи – тварини з седацією, що отримували налоксон інтраназально (і/наз) у дозах, відповідно 0,2, 1,0 і 3,0 мг/кг; 6, 7 та 8 групи – тварини з седацією, що отримували налоксон внутрішньом'язово (в/м) у тих же дозах. Функціональний стан центральної нервової системи (ЦНС) тварин оцінювали в тесті «відкрите поле», реєструючи рухову активність (число перетнутих секторів), число емоційно-дослідницьких (стійки, вмивання), вегетативних (уринації, дефекації) реакцій упродовж 15 хв та інтегральну активність ЦНС як суму вищезазначених показників. Ефект налоксону оцінювали за відновленням показників функціонального стану ЦНС за формулою $[(\Delta X_k - \Delta X_d) / \Delta X_k] \times 100\%$, де ΔX_k і ΔX_d – зниження показника (відносно інтактного контролю) у нелікованому контролі та дослідних групах відповідно.

У ІІ серії активність налоксону оцінювали за нівелюванням аналгетичної дії морфіну в тестах «tail-flick», «hot plate» та електричного подразнення [1, 3].

Таблиця 1

Пригнічуюча дія налоксону на морфін-індуковану седацію щурів у тесті «відкрите поле»

Групи	Доза налоксону, мг/кг	Рухова активність (абс./%)	Дослідницькі реакції (абс./%)	Вегетативні реакції (абс./%)	Сумарна активність (абс./%)
Інтактні, контроль I	–	43,1±3,7	14,9±1,9	3,3±0,8	61,3±3,6
Патологія, контроль II	–	11,0±2,4 ¹	1,0±0,5 ¹	1,0±0,4 ¹	12,9±2,6 ¹
Патологія + налоксон і/наз	0,2	12,0±1,1 ¹ 3,1	3,6±1,0 ^{1,2} 18,7	1,3±0,5 ¹ 13,0	17,0±1,3 ¹ 8,5
	1,0	14,1±2,4 ¹ 9,7	13,1±3,0 ² 87,1	1,6±0,5 26,1	28,9±2,9 ^{1,2} 33,1
	3,0	21,8±1,8 ^{1,2} 33,6	14,4±2,8 ² 96,4	2,5±0,6 ² 65,2	38,6±3,6 ^{1,2} 53,1
Патологія + налоксон в/м	0,2	12,5±2,8 ¹ 4,7	5,4±1,9 ^{1,2} 31,7	1,3±0,5 ¹ 13,0	19,1±4,7 ¹ 12,8
	1,0	22,4±5,0 ¹ 35,5	10,5±3,1 ² 68,3	2,5±0,4 ² 65,2	35,4±5,1 ^{1,2} 46,5
	3,0	26,3±2,4 ^{1,2} 47,7	13,3±1,9 ² 88,5	2,6±0,5 ² 69,6	42,1±2,8 ^{1,2} 60,3

Примітки:

- 1) ¹ – достовірність з групою інтактних тварин, $p < 0,05$.
 2) ² – достовірність з групою тварин з нелікованою патологією, $p < 0,05$.
 3) Число тварин у групі = 8.

У тесті «tail-flick» досліди виконані на 56 щурах (7 груп): 1 група (неліковані) – морфінова аналгезія; 2, 3 та 4 групи – тварини з аналгезією, що отримували налоксон і/наз у дозах, відповідно 0,2, 1,0 та 3,0 мг/кг; 5, 6 та 7 групи – тварини з аналгезією, що отримували налоксон в/м у тих же дозах. Порог больової чутливості (ПБЧ) визначали як період утримання хвоста у фокусі теплового променя (с), реєструючи його до та через 15, 20, 35 і 60 хв після введення.

У тестах «hot plate» та електробольове подразнення досліди були виконані на 40 щурах (5 груп): 1 група (неліковані) – морфінова аналгезія, 2 та 3 групи – тварини з аналгезією, що отримували налоксон і/наз у дозах 0,2 та 1,0 мг/кг; 4 та 5 групи – тварини з аналгезією, що отримували налоксон в/м у тих же дозах. ПБЧ визначали як час (с) до прояву больової реакції (облизування та відсмикування кінцівок, вокалізація) у тварини на пластині із температурою +56°C. Електробольове подразнення викликали періодично зростаючим за напругою електричним струмом з частотою імпульсів 1100 Гц, що пропускався крізь металеву підлогу камери, де знаходилася тварина. ПБЧ визначали як рівень напруги (В), що викликав больову реакцію (відсмикування лап від підлоги, вокалізація), реєструючи його до та через 15, 45 та 90 хв після введення.

Ефект налоксону на морфін-індуковану аналгезію розраховували за формулою: $[(X_k - X_d)/X_k] \times 100\%$, де X_k і X_d – ПБЧ тварин у нелікованому контролі та дослідних групах, відповідно. Оцінювали також сумарний аналгетичний ефект (АЕ_с) як площу під кривою «час-ефект».

Дослідження проведені з дотриманням правил Європейської конвенції по захисту тварин, що використовують у наукових цілях (Страсбург, 1985). Статистичну обробку проводили шляхом визначення середніх значень (\bar{x}) та стандартної помилки ($S_{\bar{x}}$), достовірність відмінностей визначали за t-критерієм Стьюдента на рівні значущості не менше 95% ($p \leq 0,05$). Середні ефективні дози (ЕД₅₀) розраховували методом Б.М.Штабського та співавт. [23].

Результати та їх обговорення

Усунення седації, індукованої токсичною дозою морфіну

Однократне підшкірне введення морфіну щурам у дозі 100 мг/кг призводить до виразного пригнічення ЦНС тварин із достовірним скороченням рухової активності у 3,9 рази, числа поведінкових реакцій – в 14,9 рази, вегетативних реакцій – у 3,3 рази, інтегральної активності ЦНС – у 4,8 рази (табл. 1).

Однократне і/наз введення налоксону дозозалежно попереджує морфін-індуковане пригнічення ЦНС щурів, нормалізуючи її функціональний стан. На фоні і/наз введення налоксону в дозах 0,2, 1,0 та 3,0 мг/кг рухова активність щурів дозозалежно зростала. Ефекти налоксону при і/наз інстиляції були співставні із такими при в/м введенні у відповідних дозах (табл. 1). Як при і/наз, так і при в/м введенні налоксон відновлює переважно дослідницькі та вегетативні реакції і менш значно – рухову активність. Ефект налоксону при і/наз введенні недостовірно поступається такому при в/м ін'єкції, про що свідчать близькі за рівнем ЕД₅₀, розраховані за ефектами по відношенню до інтегральної активності ЦНС: для спрею налоксону – 2,6 (1,3÷3,8) мг/кг, для розчину налоксону – 2,0 (0,8÷3,2) мг/кг.

Таблиця 2

Динаміка інгібуючої дії налоксону на морфін-індуковану аналгезію у щурів у тестах «tail-flick», «hot-plate» та електробольового подразнення

Групи	Доза налоксону, мг/кг	Пригнічення аналгезії (%) через . . . хв після введення					AE ₅₀ (% × хв)
		15	30	45	60	90	
Tail-flick							
Налоксон і/наз	0,2	0,5	19,9	–	39,9	63,7	1798,3
	1,0	35,7	42,3	–	56,3	72,5	2812,3
	3,0	47,6	55,9	–	70,3	74,4	3371,0
Налоксон в/м	0,2	9,1	28,1	–	40,4	51,4	2075,5
	1,0	31,6	43,6	–	58,1	73,9	2837,8
	3,0	49,1	57,2	–	68,2	76,3	3390,8
Hot-plate							
Налоксон і/наз	0,2	53,6	–	58,5	–	52,1	4572,0
	1,0	64,3	–	68,4	–	46,6	5060,3
Налоксон в/м	0,2	43,8	–	51,0	–	45,3	3917,3
	1,0	62,1	–	67,8	–	65,3	5409,0
Електробольове подразнення							
Налоксон і/наз	0,2	26,5	–	29,4	–	40,0	2598,8
	1,0	29,0	–	34,5	–	35,3	2740,5
Налоксон в/м	0,2	25,3	–	31,5	–	45,7	2778,8
	1,0	42,0	–	38,0	–	37,5	3213,8

Примітки:

1) Число тварин у групі = 8.

2) AE₅₀ – сумарний аналгетичний ефект.

Усунення аналгезії, індукованої терапевтичною дозою морфіну

В усіх використаних тестах одноразове підшкірне введення морфіну у дозі 10 мг/кг викликає достовірне зростання ПБЧ щурів, тоді як і/наз або ін'єкційне введення налоксону знижує аналгетичний ефект морфіну, дозозалежно попереджаючи морфін-індуковане підвищення ПБЧ.

У тесті «tail-flick» на фоні і/наз та в/м введення налоксону в дозі 0,2 мг/кг помірно морфін-зумовлене підвищення ПБЧ зберігалося лише протягом перших 15 хв, а надалі ПБЧ знижувався майже до початкового рівня. При підвищенні дози налоксону до 1 мг/кг аналгетичний ефект морфіну усувався повністю, а подальше збільшення дози до 3 мг/кг призводило до достовірного зниження ПБЧ тварин нижче початкового рівня з 15 по 35 хв після введення. Загалом динаміка ПБЧ при і/наз та в/м введенні налоксону була подібною. Згідно з табл. 2 в тесті «tail-flick» інтегральний показник антиопіоїдної ефективності налоксону (AE₅₀) при і/наз інстиляції в дозах 0,2, 1 та 3 мг/кг (відповідно 1798,3, 2812,3 та 3371,0 хв×%) становив 86,6%, 99,1% та 99,4% від AE₅₀ при в/м введенні (2075,5, 2837,8 та 3390,8 хв×%). ED₅₀ спрею налоксону, розрахована на підставі ефектів на 20 хв, склала 2,2 (0,7÷3,8) мг/кг, що не відрізнялося достовірно від ED₅₀ в/м введення налоксону – 2,1 (0,1÷4,0) мг/кг.

У тесті «hot-plate» і/наз інстиляція налоксону, як і його в/м введення, в дозах 0,2 та 1,0 мг/кг повністю усувало аналгезію, ПБЧ у дослідних групах були достовірно нижчі за такі у нелікованих тварин з мор-

фіною аналгезією протягом всього періоду спостереження. Інтегральний показник – AE₅₀ при і/наз інстиляції в дозах 0,2 та 1,0 мг/кг (відповідно 4572,0 та 5060,3 хв×%) склав 116,7% та 93,6% від AE₅₀ при ін'єкційному введенні (3917,3 та 5409,0 хв×%).

При електробольовому подразненні щурів налоксон у дозах 0,2 мг/кг і 1,0 мг/кг також повністю усував морфін-індуковану аналгезію при обох шляхах введення (табл. 2). Інтегральний показник AE₅₀ при і/наз інстиляції в дозах 0,2 та 1,0 мг/кг (відповідно 2598,8 та 2740,5 хв×%) склав 93,5%, та 85,3% від AE₅₀ при ін'єкційному введенні (2778,8 та 3213,8 хв×%).

Співставні показники фармакологічної протиопіоїдної активності налоксону при і/наз та в/м введенні свідчать про високу відносну біодоступність налоксону при і/наз введенні щурам, що відповідає даним літератури [12].

ВИСНОВКИ

1. Налоксон при інтраназальній інстиляції, як і при внутрішньом'язовому введенні щурам, виявляє характерні протиопіоїдні властивості щодо токсичної седативної та специфічної аналгетичної дії морфіну.

2. Інтраназальне введення налоксону щурам за виразністю фармакологічних ефектів є співставним з внутрішньом'язовою ін'єкцією.

3. Отримані дані свідчать про доцільність розробки і впровадження у практику невідкладної медицини інтраназального спрею налоксону як засобу усунення симптомів гострого наркотичного передозування.

ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. член-кор. НАМН України О.В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2002. – 568 с.
2. Линский И.В., Самойлова Е.С., Первомайский Э.Б., Голощапов В.В. // Укр. вісник психоневрол. – 2008. – Т. 16, вып. 2. – С. III-III6.
3. Методические указания по изучению обезболивающего (морфиноподобного) действия и налоксоноподобной активности фармакологических веществ / В.М.Булаев, Н.В.Коробов // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. Р.У.Хабриева. – М.: ОАО «Изд-во «Медицина», 2005. – С. 338-342.
4. Передозировка опиатами: причины и профилактика: Сб. статей. – М.: «СПИД Фонд Восток-Запад», 2004. – 30 с.
5. Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О. и др. Проблема нормы в токсикологии (Современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / Под ред. И.М.Трахтенберга. – М.: Медицина, 1991. – 204 с.
6. Штабский Б.М., Гжегоцкий М.И., Гжегоцкий М.Р. и др. // Гигиена и санитария. – 1980. – №10. – С. 49-51.
7. Amol K., Sanjay P., Satish D. et al. // *Pharmacology online*. – 2011. – Vol. 3. – P. 1242-1255.
8. Babbini M., Davis W. // *Br. J. Pharmacol.* – 1972. – Vol. 46. – P. 213-224.
9. Barton E., Colwell C., Wolfe T. et al. // *J. Emerg. Med.* – 2005. – Vol. 29, №3. – P. 265-271.
10. Brunton L., Chabner B., Knollman B. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 12-th Ed.* – McGraw Hill Professional, 2010. – 1808 p.
11. Gardmark M., Høglund U., Hammarlund-Udenaes M. // *Pharmacol. Toxicol.* – 1998. – Vol. 83. – P. 252-258.
12. Hussain A., Kimura R., Chong-Heng H., Kashihara T. // *Intern. J. of Pharmaceutics.* – 1984. – Vol. 21, №2. – P. 233-237.
13. Merlin M., Saybolt M., Kapitanian R. et al. // *Am. J. Emerg. Med.* – 2010. – Vol. 28, №3. – P. 296-303.
14. Robertson T., Hendey G., Stroh G., Shalit M. // *Prehospital Emergency Care.* – 2009. – Vol. 13, №4. – P. 512-515.
15. Wolfe T., Bernstone T. // *J. Emerg. Nurs.* – 2004. – Vol. 30, №2. – P. 141-147.

УДК 615.015.23 + 615.099]:[615.21:615.451.35]

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НАЛОКСОНА ПРИ ИНТРАНАЗАЛЬНОМ И ИНЪЕКЦИОННОМ ВВЕДЕНИИ КРЫСАМ

О.В.Тимченко, Л.А.Чайка, Н.А.Ляпунов, Т.В.Андрианова

Исследованы фармакологические эффекты налоксона при интраназальной инстилляцией крысам. Показано, что налоксон при интраназальной инстилляцией оказывает характерный антагонистический эффект в отношении специфического действия морфина. По выраженности фармакологических эффектов интраназальное введение налоксона сопоставимо с его внутримышечной инъекцией. Полученные данные свидетельствуют о перспективности дальнейшей разработки новой лекарственной формы – назального спрея налоксона как средства неотложного устранения симптомов острого наркотического передозирования.

UDC 615.015.23 + 615.099]:[615.21:615.451.35]

A COMPARATIVE EXPERIMENTAL PHARMACOLOGICAL STUDY OF NALOXON AFTER INTRANASAL ADMINISTRATION AND INJECTION IN RATS

O.V.Tymchenko, L.O.Chaika, M.O.Lyapunov, T.V.Andrianova

The pharmacological effects of naloxone after intranasal instillation to rats have been investigated. It has been shown that intranasal instillation of naloxone, as well as its intramuscular injection, has a characteristic antagonistic effect in relation to the specific effects of morphine. The significance of pharmacological effects of intranasal naloxone is comparable to its intramuscular injection. The data obtained indicate that further development of a new dosage form – nasal spray of naloxone for urgent elimination of symptoms of acute narcotic overdose symptoms is promising.