

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

Порівняльне фармакологічне дослідження кеторолаку при інтраназальному та внутрішньом'язовому введенні щурам

ДП «Державний науковий центр лікарських засобів та медичної продукції», м. Харків

Ключові слова: кеторолак, спрей назальний, фармакологічна активність

Останніми роками предметом активних досліджень є ефективність інтраназального шляху введення кеторолаку трометамолу (далі кеторолаку) при гострому больовому синдромі [8, 10, 14]. Отримані результати зумовлюють доцільність створення нової лікарської форми кеторолаку – спрею назального, застосування якої дозволить подовжити припустиму тривалість лікування цим ефективним анальгетиком, водночас уникаючи небажаного перорального та трудомісткого ін'єкційного введення, а також полегшуючи застосування анальгетика «за вимогою» у схемах анальгезії, що контролюється пацієнтом [3].

Мета дослідження – порівняльне вивчення анальгетичної та протизапальної активності кеторолаку при інтраназальній інстиляції та внутрішньом'язовому введенні щурам. Об'єктом дослідження був препарат Кеторолак спрей назальний, фармацевтична розробка якого здійснювалась під керівництвом доктора фармацевтичних наук, професора М. О. Ляпунова (ДП «ДНЦЛЗ», м. Харків). Дослідження проведені порівняно із препаратом Кеторолак розчин для внутрішньом'язового введення 30 мг/мл (ВАТ «Мосхімфармпрепарати» ім. М. О. Семашко», Росія).

Матеріали та методи. Дослідження проведені на 160 нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою тіла 150–310 г. Вибір доз проведений з урахуванням даних літератури щодо фармакологіч-

ної активності кеторолаку за умов відповідних моделей болю та запалення [4, 5, 9, 12, 13, 15, 16].

У I серії експериментів досліджена протизапальна та анальгетична активність кеторолаку при гострому асептичному карагеніновому запаленні стопи щурів [1, 6, 11, 17]. Досліди виконані на 64 щурах (7 груп): 1 група – нелікований контроль (патологія); 2, 3 та 4 групи – тварини із патологією, що отримували кеторолак інтраназально в дозах, відповідно 1, 5 та 10 мг/кг; 5, 6 та 7 групи – тварини із патологією, що отримували кеторолак внутрішньом'язово в тих самих дозах. Ексудативний набряк викликали через 30 хв після введення препаратів субплантарною ін'єкцією в праву задню стопу щурів 0,08 мл 0,5 % водного розчину карагеніну. Протизапальний ефект оцінювали за пригніченням приросту набряку стопи на фоні препаратів порівняно із нелікованим контролем. Об'єм стопи вимірювали до та через 0,25, 0,5, 1,0 та 3 год після ін'єкції флогістику на електронному плетизмометрі (мод. 7150, Уго Базиле, Італія). Кількісно протизапальний ефект (ПЕ) розраховували за формулою:

$$\text{ПЕ} = [(\Delta V_{\text{к}} - \Delta V_{\text{д}}) \cdot 100 \%]: \Delta V_{\text{к}},$$

де $\Delta V_{\text{к}}$ і $\Delta V_{\text{д}}$ – середній приріст об'єму запаленої стопи в контрольній та дослідній групі відповідно.

Поріг больової чутливості (ПБЧ) реєстрували через 0,5, 1 та 3 год після ін'єкції флогістику за методом Рендал-Селіто на анальгезиметрі (Уго Базиле, Італія; мод. 7200). Кількісно анальгетичний ефект (АЕ) розрахову-

вали за збільшенням ПБЧ на фоні кеторолаку порівняно із контролем за формулою:

$$AE = [(F_d - F_k) : F_k] \cdot 100 \%,$$

де F_d і F_k – порогова сила тиску на стопу (г) у дослідній та контрольній групах відповідно.

Визначали сумарний протизапальний (PE_{Σ}) та сумарний аналгетичний ефект (AE_{Σ}) як площі під кривими «час-ефект».

У II серії експериментів фармакологічну активність кеторолаку вивчали за аналгетичною дією за умов експериментального вісцерального болю, викликаного хімічним подразником (оцтовокислі «корчі») [1, 6, 11, 17]. Досліди виконані на 56 щурах (7 груп): 1 група – нелікований контроль (патологія); 2, 3, 4 групи – тварини із патологією, що отримували кеторолак інтраназально у дозах 1, 2 і 10 мг/кг відповідно; 5, 6 та 7 групи – тварини із патологією, що отримували кеторолак внутрішньом'язово у тих самих дозах. «Корчі» викликали внутрішньочеревним введенням 0,75 % розчину оцтової кислоти в дозі 1 мл/100 г через 30 хв після введення препаратів. Підрахунок числа «корчів» починали через 15 хв після введення подразника і проводили упродовж 30 хв. Кількісно аналгетичний ефект (AE) оцінювали за зменшенням числа «корчів» порівняно із контролем, розраховуючи його за формулою:

$$AE = [(C_k - C_d) \cdot 100 \%] : C_k,$$

де C_k і C_d – кількість «корчів» у контрольній та дослідних групах відповідно.

У III серії вивчали аналгетичну активність кеторолаку за умов експериментального болю із центральним компонентом: при термо- (тест «tail-flick») та електробольовому подразненні щурів. Досліди виконані на 40 щурах (5 груп): 1 група – нелікований контроль (патологія); 2 та 3 групи – тварини із патологією, що отримували кеторолак інтраназально у дозах, відповідно 5 мг/кг та 25 мг/кг; 4 та 5 групи – тварини із патологією, що отримували кеторолак внутрішньом'язово в тих самих дозах. У тесті «tail-flick» ПБЧ

визначали як час (с) утримання хвоста у фокусі теплового променя. Електробольове подразнення викликали 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). В обох тестах ПБЧ реєстрували до та через 0,25, 0,5, 1, 2, 4 та 6 год після введення препаратів кеторолаку. Кількісно аналгетичний ефект (AE) оцінювали за зростанням ПБЧ порівняно із таким у контролі, розраховуючи його за формулою:

$$AE = [(ПБЧ_d - ПБЧ_k) : ПБЧ_k] \cdot 100 \%,$$

де $ПБЧ_k$ і $ПБЧ_d$ – ПБЧ у контрольній та дослідних групах відповідно.

У кожному тесті визначали також сумарний аналгетичний ефект (AE_{Σ}) як площу під кривою «час-ефект».

Дослідження проведені із дотриманням правил Європейської конвенції з захисту тварин, що використовують у наукових цілях (Страсбург, 1985 р.) [2]. Статистичну обробку проводили, визначаючи середні значення (\bar{x}) та стандартну похибку ($S\bar{x}$), достовірність відмінностей за t-критерієм Стьюдента на рівні значущості не менш 95 % ($P \leq 0,05$). Середні ефективні дози (ED_{50}) розраховували за методом Б. М. Штабського зі співавторами.

Результати та їх обговорення. Протизапальна та аналгетична дія за умов експериментального запалення. Субплантарна ін'єкція карагеніну призводить до розвитку запального набряку, що супроводжується підвищенням больової чутливості запалених тканин стопи внаслідок вивільнення низки медіаторів болю та запалення [6, 7, 17]. Профілактична інтраназальна інстиляція, як і внутрішньом'язове введення кеторолаку дозозалежно пригнічує розвиток набряку стопи, який у нелікованих щурів сягає максимуму через 3 год після введення карагеніну. Достовірно менший середній приріст набряку спостерігається в усіх групах, що отримували кеторолак, починаючи з 0,25 год після ін'єкції карагеніну; достовірність розбіжностей зберігається до кінця

періоду спостереження (3 год). Протизапальний ефект як спрею, так і розчину кеторолаку є виразним уже через 0,25 год після введення (табл. 1). Надалі до 0,5 год після введення ефект кеторолаку при внутрішньом'язовому введенні продовжував зростати, тоді як при введенні спрею спостерігалось його нетривале зниження із подальшим зростанням до 1 год.

У період з 1 по 3 год протизапальний ефект як спрею, так і ін'єкційного розчину кеторолаку є стабільним (табл. 1). Сумарний протизапальний ефект (ПЕ_Σ) кеторолаку при інтраназальному введенні в дозах 1, 5 і 10 мг/кг дорівнював 80,4, 108,2 та 138,9 ч.%, що становило 75,9 %, 90 % та 95,7 % від його ПЕ_Σ при внутрішньом'язовій ін'єкції: 105,9, 120,3 та 145,2 ч.%, відповідно. Протизапальна ЕД₅₀ спрею кеторолаку, розрахована на підставі ефекту на 1 год, склала 11,1 мг/кг та достовірно не відрізнялася від ЕД₅₀ кеторолаку при внутрішньом'язовому введенні – 8,4 мг/кг.

Профілактична інтраназальна інстиляція, як і внутрішньом'язове введення кеторолаку, дозозалежно гальмує зниження ПБЧ стопи щурів, виявляючи виразний знеболюючий ефект (табл. 1). Аналгетичний ефект як спрею, так і розчину кеторолаку є виразним вже через 0,5 год після введення, до 1 год дещо зростає і надалі поступово зменшується. За виразністю аналгетичний ефект кеторолаку при інтраназальному введенні дещо поступається внутрішньом'язовій ін'єкції.

Сумарний аналгетичний ефект (АЕ_Σ) кеторолаку при інтраназальному введенні в дозах 1, 5 і 10 мг/кг дорівнював 60,4, 87,0 та 124,1 ч.%, що становило 77,4 %, 83,1 % та 80,7 % від його АЕ_Σ при внутрішньом'язовій ін'єкції: 78,0, 104,7 та 153,7 ч.%, відповідно. Аналгетична ЕД₅₀ спрею кеторолаку, розрахована на підставі ефекту на 1 год, складає 9,1 мг/кг, що не відрізняється вірогідно від ЕД₅₀ кеторолаку при внутрішньом'язовому введенні – 5,1 мг/кг.

Аналгетична дія за умов експериментального вісцерального болю. Внутрішньочеревна ін'єкція оцтової кислоти викликає в щурів больову реакцію у вигляді «корчів», а саме скорочення очеревинних м'язів та витягування задніх кінцівок, що зумовлено хімічним подразненням очеревини та вивільненням низки медіаторів болю та запалення [11, 17]. Число «корчів» у контрольній групі склало у середньому 25,6 скорочень. Профілактичне інтраназальне, так само як і внутрішньом'язове, введення кеторолаку виявляє виразний аналгетичний ефект, що проявляється в дозозалежному скороченні числа «корчів» порівняно із контролем (табл. 2).

При внутрішньом'язовому введенні кеторолаку в дозі 1 мг/кг середнє число «корчів» знижується недостовірно порівняно із контролем, аналгетичний ефект у дозі 1 мг/кг склав 20,7 %. Збільшення дози кеторолаку до 2 і 10 мг/кг супроводжується дозозалежним достовірним скороченням числа

Таблиця 1

Протизапальний та аналгетичний ефекти кеторолаку при інтраназальному та внутрішньом'язовому введенні щурам із карагениновим набряком

Група	Доза, мг/кг	Протизапальний та аналгетичний ефекти, %							
		0,25 год		0,5 год		1,0 год		3,0 год	
		ПЕ	АЕ	ПЕ	АЕ	ПЕ	АЕ	ПЕ	АЕ
Кеторолак і/назально	1	26,8	23,4	22,9	30,0	26,0	27,4	16,4	
	5	39,2	32,5	27,2	32,2	36,8	46,0	27,4	
	10	47,4	41,3	49,4	49,9	53,1	49,2	33,0	
Кеторолак в/м	1	19,1	27,0	28,7	42,6	34,2	37,7	20,9	
	5	33,0	36,1	44,6	42,3	45,8	45,6	25,1	
	10	31,1	56,0	64,8	53,8	73,0	49,2	30,0	

Примітка. Число тварин у групі = 8.

Аналгетична активність кеторолаку при інтраназальному та внутрішньом'язовому введенні за умов оцтовокислих «корчів» щурів

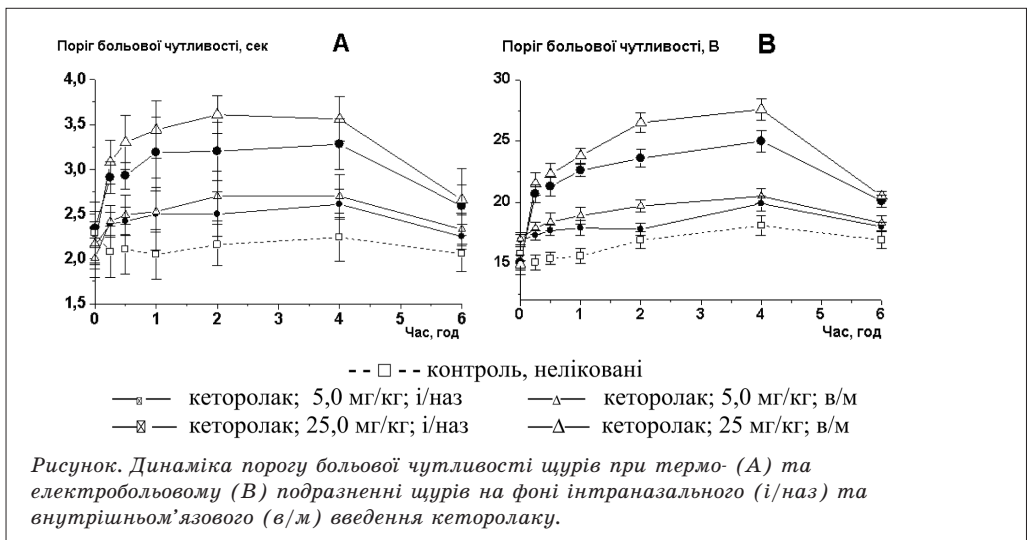
Група	Доза кеторолаку, мг/кг	Число «корчів»	Аналгетичний ефект, %
Контроль (патологія, неліковані)	—	25,6 ± 2,3	—
Кеторолак і/назально + патологія	1	22,8 ± 2,4	10,9
	2	18,3 ± 2,3*	28,5
	10	9,1 ± 2,6*	64,5
Кеторолак в/м + патологія	1	20,3 ± 3,0	20,7
	2	14,1 ± 2,6*	44,9
	10	4,1 ± 1,8*	84,0

Примітка. *P – 0,05 порівняно із контролем; число тварин у групі = 8.

«корчів» зі зростанням аналгетичного ефекту до 44,9 % й 84,0 % відповідно. Аналгетична дія кеторолаку при інтраназальному введенні дещо поступаєть ся такій при внутрішньом'язовій ін'єкції. За інтраназального введення кеторолаку в дозі 1 мг/кг середнє число «корчів» не відрізняється досто- вірно від контролю при аналгетичному ефекті 10,9 %. При збільшенні дози спрею кеторолаку до 2 і 10 мг/кг число «корчів», дозозалежно знижую- чись, набуває достовірних відміннос- тей від контролю зі зростанням анал- гетичного ефекту до 28,5 % і 64,5 % відповідно. ED₅₀ кеторолаку при інтра- назальному та внутрішньом'язовому введенні достовірно не розрізнялись та становили 6,9 мг/кг та 4,4 мг/кг від- повідно.

Аналгетична дія за умов експери- ментального болю із центральним компонентом. За умов термо- (тест «tail-flick») та електробольового подраз- нення щурів інтраназальне, як і внутрішньом'язове введення кеторола- ку виявляє дозозалежний аналгетич- ний ефект, подовжуючи порівняно із контролем термін безболісного утри- мання хвоста щура у фокусі теплового променя (рисунк).

В обох тестах аналгетичні ефекти кеторолаку при інтраназальному і внутрішньом'язовому введенні харак- теризувались подібною динамікою (табл. 3), але інтраназальна інстиляція кеторолаку чинила дещо менший анал- гетичний ефект порівняно із внутріш- ньом'язовою ін'єкцією. При термобольовому подразненні сумарний аналге-



Динаміка аналгетичного ефекту кеторолаку при інтраназальному та внутрішньом'язовому введенні в тестах термо- та електробольового подразнення щурів

Група	Доза кеторолаку, мг/кг	Аналгетичний ефект, %					
		15 хв	30 хв	60 хв	120 хв	240 хв	360 хв
Термобольове подразнення («tail-flick»)							
Кеторолак і/наз	5	14,9	14,7	22,0	15,7	16,5	9,2
	25	39,9	38,9	55,6	48,1	46,4	25,7
Кеторолак в/м	5	16,3	18,0	23,4	25,0	20,5	13,1
	25	48,1	56,4	67,8	67,1	58,9	29,1
Електробольове подразнення							
Кеторолак і/наз	5	14,6	14,9	14,7	5,3	9,9	6,5
	25	37,1	38,3	44,9	39,6	38,1	18,9
Кеторолак в/м	5	18,5	19,5	21,2	16,6	13,3	8,3
	25	42,4	44,8	52,6	56,8	52,5	21,3

Примітка. Число тварин у групі = 8.

тичний ефект кеторолаку (AE_{50}) при інтраназальному введенні в дозі 5 мг/кг дорівнює 91,5 ч.%, у дозі 25 мг/кг – 256,9 ч.%, що складає відповідно 76,3 % і 77,5 % від AE_{50} кеторолаку при внутрішньом'язовій ін'єкції в тих самих дозах (120,0 і 331,6 ч.%). При електробольовому подразненні AE_{50} кеторолаку при інтраназальній інстиляції в дозах 5 і 25 мг/кг становив 54,5 і 211,8 ч.%, що склало відповідно 62,0 % і 76,0 % від AE_{50} препарату при внутрішньом'язовому введенні у відповідних дозах (87,7 і 278,4 ч.%).

Необхідно зазначити, що за умов болю із центральним компонентом аналгетична активність кеторолаку як при інтраназальному, так і при внутрішньом'язовому введенні спостерігається у дозах, значно більших, ніж при болю із запальним компонентом, що зумовлено особливостями механізму знеболювальної дії препарату, який пов'язаний із пригніченням циклооксигенази та гальмуванням утворення ключових медіаторів запалення – простагландинів, супероксидів та вільних гідроксильних радикалів [3, 5, 9].

Загалом, при інтраназальному введенні кеторолак виявляє співставні, але дещо менш виразні аналгетичний та проти-запальний ефекти, ніж при внутрішньом'язовій ін'єкції, що корелює із фармакокінетичними даними щодо відносної біодоступності кеторолаку при інтраназальній інстиляції [9].

Висновки

1. Кеторолак при інтраназальній інстиляції, так само як і при внутрішньом'язовому введенні щурам за умов болю різної етіології та запалення, виявляє характерний аналгетичний та протизапальний ефекти.
2. При інтраназальному введенні щурам виразність фармакологічних ефектів кеторолаку може бути зіставлена з їхньою виразністю при внутрішньом'язовій ін'єкції.
3. Отримані дані свідчать про доцільність впровадження в медичну практику препарату Кеторолак, спрей назальний як аналгетичного засобу для застосування при гострому больовому синдромі.

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2002. – 527 с.
2. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. – 2003. – № 2 (22). – С. 108–109.
3. Лебедева Р. Н. Фармакотерапія острої болю / Лебедева Р. Н., Нікода В. В. – М.: Издательство «Аир-Арт», 1998. – 184 с.

4. Ядловський О. Є. Фармакологічний аналіз участі моноаміноергічних систем в реалізації антиноцицептивної дії піродазолу в порівнянні з кеторолаком / Ядловський О. Є. // Експериментальна і клінічна медицина.– 2009.– № 3.– С. 50–53.
5. Buckley M. Ketorolac. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential / Buckley M., Brogden R. // Drugs.– 1990.– V. 39, № 1.– P. 86–109.
6. Drug Discovery and Evaluation. Pharmacological Assays / Ed. by Vogel H.G. and Vogel W. H.– Springer-Verlag, 1997.– 757 p.
7. Ferreira S. H. Prostaglandin hyperalgesia and the control of inflammatory pain / Ferreira S. H. // In: The pharmacology of inflammation / Ed. I. L. Bonta, M. A. Bray, M. J. Parnham.– Amsterdam, New York, Oxford, 1985.– P. 110.
8. Garnock-Jones K. P. Intranasal ketorolac: for short-term pain management / Garnock-Jones K. P. // Clin. Drug Investig.– 2012.– V. 32, № 6.– P. 361–371.
9. Relationship between pharmacokinetics and the analgesic effect of ketorolac in the rat / Granados-Soto V., Lopez-Munoz F., Hong E., Flores-Murrieta F. // J. Pharmacol. Exp. Ther.– 1995.– V. 272, № 1.– P. 352–356.
10. Grant G. M. Intranasal ketorolac for pain secondary to third molar impaction surgery: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial / Grant G. M., Mehlisch D. R. // J. Oral Maxillofac. Surg.– 2010.– V. 68, № 5.– P. 1025–1031.
11. Le Bars D. Animal Models of Nociception / Le Bars D., Gozariu M., Cadden S. // Pharmacological reviews.– 2001.– V. 53, № 4.– P. 597–652.
12. Lack of addictive potential of ketorolac tromethamine / Lopez M., Waterbury L. D., Michel A. [et al.] // Pharmacologist.– 1987.– V. 29.– P. 136.
13. Ketorolac potentiates morphine antinociception during visceral nociception in the rat / Maves T., Pechman P., Meller S., Gebhart G. // Anesthesiology.– 1994.– V. 80, № 5.– P. 1094–1101.
14. Moodie J. E. The safety and analgesic efficacy of intranasal ketorolac in patients with postoperative pain / Moodie J. E., Brown C. R., Bisley E. J. // Anesth. Analg.– 2008.– V. 107, № 6.– P. 2025–2031.
15. The analgesic and anti-inflammatory profile of (±)-5-benzoyl-1,2-dihydro-3H-pyrrolo[1,2a]pyrrole-1-carboxylic acid (RS-37619) / Rooks II WH., Tomolonis A. J., Maloney P. J. [et al.] // Agents and Action.– 1982.– V. 12.– P. 684–690.
16. The analgesic and anti-inflammatory profile of ketorolac and its tromethamine salt / Rooks W. H., Maloney P. J., Shott L. D. [et al.] // Drugs under Experimental and Clinical Research.– 1985.– V. 11.– P. 479–492.
17. The Pharmacology of pain / Ed. A. Dickenson, J.– M. Besson.– Berlin: Springer-Verlag, 1997.– 480 p.

О. В. Тимченко, Л. А. Чайка, Н. А. Ляпунов, В. В. Либина, Т. В. Андрианова
Сравнительное фармакологическое исследование кеторолака
при интраназальном и внутримышечном введении крысам

Исследованы фармакологические эффекты кеторолака при интраназальной инстилляцией крысам. Показан дозозависимый анальгетический эффект кеторолака в условиях воспалительной гипералгезии (карагениновый отек стопы), висцеральной боли (уксуснокислые «корчи») и боли с центральным компонентом («tail-flick», электроболовое раздражение), а также его противовоспалительное действие при карагениновом воспалении. По выраженности фармакологических эффектов интраназальное введение кеторолака сопоставимо с его внутримышечной инъекцией. Полученные данные свидетельствуют о перспективности дальнейшей разработки новой лекарственной формы – назального спрея кеторолака как анальгетического средства для купирования острого болевого синдрома.

Ключевые слова: кеторолак, спрей назальный, фармакологическая активность

О. V. Tymchenko, L. O. Chaika, M. O. Lyapunov, V. V. Libina, T. V. Andrianova
Comparative pharmacological study of ketorolac after intranasal
or intramuscular administration to rats

The pharmacological effects of ketorolac after intranasal administration to rats have been investigated. The dose-dependent analgetical effect of ketorolac at inflammatory hyperalgesia (carrageenan-induced oedema), visceral pain (acetic acid-induced writhing test), pain with central component («tail-flick» and electrical irritation) as well as its anti-inflammatory activity in carrageenan inflammation have been shown. The analgesic effects of intranasal ketorolac is comparable to its activity at intramuscular injection. The data obtained indicate that further development of new dosage form of ketorolac as nasal spray appears to be perspective for the acute pain relief.

Key words: ketorolac, nasal spray, pharmacological activity

Надійшла: 13.06.2013 р.

Контактна особа: Тимченко Ольга Володимирівна, науковий співробітник, лабораторія загальної фармакології, «Державний науковий центр лікарських засобів та медичної продукції», вул. Астрономічна, 33, м. Харків, 61085. Тел.: + 38 057 720 63 89. Електронна пошта: ovtimchenko@mail.ru