

О. С. Попов¹, С. К. Шебеко¹, І. А. Зупанець¹, А. С. Шаламай²
**Дослідження впливу препарату «Диклокор»
на спонтанну больову реакцію в експерименті**

¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків

²ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», м. Київ

Ключові слова: Диклокор, диклофенак натрію, кверцетин, остеоартрит, щури, анальгезія

Диклофенак натрію (ДН) є препаратом з добре відомим і широко використовуваним анальгетичним ефектом. Показання для його застосування включають ревматичні захворювання, посттравматичне та постопераційне запалення, головний біль, мігрень тощо. Тим не менш, чисельні клінічні дослідження свідчать про наявність у цього препарату деяких побічних ефектів, насамперед, підвищення ризику гастропатій та інфаркту міокарда [1]. Тому актуальною науковою задачею є пошук таких комбінацій ДН з іншими сполуками, що дозволять знизити його дозування (а разом з цим і частоту виникнення побічних ефектів) при збереженні терапевтичної ефективності препарату. У зв'язку з цим, науковий інтерес становить новий комбінований лікарський засіб «Диклокор», який є фармацевтично підготовленою комбінацією ДН з біофлаваноїдом кверцетином. Кверцетин характеризується підтвердженою в експерименті фармакологічною активністю – виявляє потужну антиоксидантну дію, здатність інгібувати ліпоксигеназу, брати участь у регуляції синтезу простагландинів. Такий спектр фармакологічних властивостей кверцетину дозволяє прогнозувати виявлення синергізму протизапальної, анальгетичної та антиульцерогенної дії в складі композиційного засобу «Диклокор».

Мета дослідження – вивчити анальгетичні властивості препарату «Диклокор» шляхом оцінки його впливу на перебіг спонтанної больової реакції в щурів при одноразовому та повторному введенні на фоні розвитку гострого остеоартриту колінного суглоба [2, 3].

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження є оригінальний препарат «Диклокор» у капсулах, що містить 40 мг кверцетину та 25 мг ДН виробництва ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ» (Україна).

Як препарат порівняння використовували ДН (препарат «Вольтарен»). Обидва препарати вводили тваринам внутрішньощлунково 1 раз на 1 добу протягом 5 діб у дозах, що відповідають ЕД₅₀ за анальгетичною активністю – 12,0 мг/кг для Диклобору (доза ДН у складі Диклобору дорівнювала 4,6 мг/кг) та 5 мг/кг для ДН [4]. ЕД₅₀ Диклобору за анальгетичною активністю було визначено на попередньому етапі дослідження. Препарати вводили у вигляді суспензій, які готували на фізіологічному розчині при додаванні необхідної кількості Твін-80.

Дослідження впливу Диклобору на перебіг спонтанної больової реакції за умов розвитку гострого експериментального остеоартриту проводили на 20 білих нелінійних щурах обох статей масою 150–180 г, яких розподілили на 2 дослідні групи по 10 тварин: 1 група – тварини з остеоартритом, що отримували Диклокор у дозі 12,0 мг/кг (ЕД₅₀ за анальгетичною активністю); 2 група – тварини з остеоартритом, що отримували ДН у дозі 5 мг/кг (ЕД₅₀ за анальгетичною активністю [4]).

На початку експерименту всіх тварин піддавали наркозу шляхом внутрішньочеревинного введення розчину фенобарбіталу в дозі 40 мг/кг (при цьому орієнтовна тривалість наркозного сну складала 1,0–1,5 год [5]) та негайно проводили відтворення гострого остеоартриту 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 [5].

Через 4 год після відтворення патології й далі щоденно протягом 5 діб усім тваринам вводили одноразово внутрішньосулунково препарати у відповідних дозах у вигляді суспензій, які попередньо виготовляли у необхідній кількості фізіологічного розчину з стабілізатором ТВІН-80.

За цих умов інтенсивність больової реакції було доцільно визначати через 6 год після відтворення патології для оцінки ефективності одноразових доз Диклокопу і далі на 3 та 5 добу – для вивчення ефекту повторних введень дослідного засобу, оскільки саме в ці періоди ступінь патофізіологічних змін мала яскраво виражений характер і відповідала перебігу суглобового синдрому в клінічній практиці.

Вимірювання інтенсивності спонтанної больової реакції проводили станом на 1, 3 та 5 добу дослідження за 30 хв та через 2 год після введення дослідних засобів. Для цього кожну тварину поміщали до фіксувальної камери «тестера інвалідності» – Incapacitance Tester MkV («Linton Instrumentation», Великобританія) та витримували там протягом 5 хв для акліматизації, поки тварина не адаптується та не прийме зручне положення. При цьому задні кінцівки щура мали знаходитися на навантажувальних пластинах приладу, кожна окремо, а передні кінцівки – на похилій передній стінці камери [6–8]. Таким чином, вся маса тварини перерозподілялася через задні кінцівки на вагові датчики «тестера інвалідності». Вимірювання перерозподілу маси тіла тварини проводили тричі з інтервалом у 5 с та фіксували середнє значення маси тіла, що приходиться на праву та ліву кінцівку окремо. Далі розраховували індекс інвалідності (II) [9, 10]:

$$II = \frac{M_{пк}}{M_{пк} + M_{лк}}, \quad \text{де}$$

II – індекс інвалідності (у. о.);

Мпк – маса тіла тварини, що розподіляється на праву (ушкоджену) кінцівку;

Млк – маса тіла тварини, що розподіляється на ліву (здорову) кінцівку.

Аналгетичну активність визначали за здатністю досліджуваних засобів зменшувати інтенсивність спонтанної больової реакції у тварин [9, 10], що проявлялося в збільшенні II порівняно з вихідними даними, та виражали у відсотках:

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

де AA – аналгетична активність, %;

II₁ – значення індексу інвалідності в групі дослідних тварин до введення лікарського засобу;

II₂ – значення індексу інвалідності в групі дослідних тварин після введення лікарського засобу.

Усі дослідження проводили відповідно до директиви Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання законів, постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети. План представленого дослідження було затверджено Комітетом з біоетики Національного фармацевтичного університету.

Статистичну обробку результатів здійснювали методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента і непараметричних методів аналізу (Mann-Whitney U Test) за допомогою комп'ютерних програм STATISTICA 7.0, StatPlus 2009 та MS Excel 2007 і представляли у вигляді порівняльних таблиць з результатами різних груп.

Результати та їх обговорення. Отримані результати наведено в таблиці. Їїхній аналіз свідчить, що Диклокопу у випадку дослідження впливу на перебіг спонтанної больової реакції в щурів чинить виражену аналгетичну дію, оскільки значно збільшує II протягом усього періоду спостережень. Це зумовлює наступні показники AA: станом на 1 добу досліджень – 45,48 %, на 3 добу – 51,71 % та на 5 добу – 65,11 %. Слід відмітити, що збільшення рівня AA дослідного препарату

*Інтенсивність спонтанної больової реакції в щурів з гострим гонартритом
за впливу Диклокоору і диклофенаку натрію, $M \pm m$*

Експериментальна група	Індекс інвалідності, у. о.		Аналгетична активність, %
	вихідні дані	2 год після введення препарату	
1 доба			
Диклокор, 12 мг/кг (n = 10)	0,250 ± 0,008	0,363 ± 0,011	45,48 ± 3,88
Диклофенак натрію, 5 мг/кг (n = 10)	0,248 ± 0,006	0,351 ± 0,007	41,97 ± 1,66
3 доба			
Диклокор, 12 мг/кг (n = 10)	0,189 ± 0,005	0,287 ± 0,008	51,71 ± 3,00
Диклофенак натрію, 5 мг/кг (n = 10)	0,186 ± 0,004	0,274 ± 0,007	47,42 ± 1,59
5 доба			
Диклокор, 12 мг/кг (n = 10)	0,291 ± 0,004	0,480 ± 0,003*	65,11 ± 2,69*
Диклофенак натрію, 5 мг/кг (n = 10)	0,294 ± 0,007	0,462 ± 0,008	57,41 ± 2,21

Примітка. *Відмінності вірогідні відносно тварин, що отримували ДН ($p < 0,05$).

пояснюється не тільки потенціюючим впливом його повторних введень, але й підвищенням вихідного рівня ІІ, що вказує на зменшення спонтанних больових відчуттів тварин внаслідок згасання патофізіологічних проявів гострого гонартриту.

Аналогічну картину, але при меншому ступені виразності, спостерігали під впливом ДН. Так, рівень його АА на 1 добу спостереження склав 41,97 %, на 2 добу – 47,42 % і на 5 добу – 57,41 %. Слід відмітити, що за рівнем АА на 5 добу дослідження ДН вірогідно поступався активності Диклокоору, хоча доза останнього за ДН дорівнювала лише 4,6 мг/кг і була на 8 % меншою, ніж при застосуванні ДН. Ймовірно, підвищення аналгетичної активності, що спостерігали в групі Диклокоору, викли-

кано синергетичною дією кверцетину в складі цього лікарського засобу.

Висновки

Отримані дані свідчать, що Диклокор у дозі 12,0 мг/кг як при одноразовому, так і повторному введенні проявив виражений аналгетичний вплив на перебіг спонтанної больової реакції у тварин на тлі розвитку гострого гонартриту, за ступенем якого вірогідно перевершив активність ДН на 5 добу спостереження.

Це свідчить про те, що незважаючи на меншу на 8 % дозу ДН у складі Диклокоору, знеболювальний ефект цього комбінованого препарату виявляється тривалішим, ніж при монотерапії диклофенаком. Отже, Диклокор є перспективним препаратом для подальшого дослідження.

- McGettigan P., Henry D. Cardiovascular Risk with Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: Systematic Review of Population-Based Controlled Observational Studies. *Strom BL, ed. PLoS Medicine*. 2011;8(9):e1001098. doi:10.1371/journal.pmed.1001098.
- Drug discovery and evaluation: pharmacological assays / Ed. H.G. Vogel. – 3rd edition. – Berlin : Springer-Verlag, 2008. – 2071 p.
- Techniques for assessing knee joint pain in arthritis / V. Neugebauer, J. S. Han, H. Adwanikar [et al.] // *Molecular Pain*. – 2007. – V. 3. – P. 8–13. doi: 10.1186/1744-8069-3-8.
- Лекарственная терапия воспалительного процесса: экспериментальная и клиническая фармакология противовоспалительных препаратов / [Я. А. Сигидин, Г. Я. Шварц, А. П. Арзамасцев, С. С. Либерман]. – Москва : Медицина, 1988. – 240 с.
- 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. – V. 161. – P. 1616 – 1627.
- Effect of intra-articular 4-(S)-amino-5-(4-{4-[2,4-dichloro-3-(2,4-dimethyl-8-quinolyloxymethyl)phenylsulfonamido]-tetrahydro-2H-4-pyranilcarbonyl} pipe-razino)-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. – V. 331 (3). – P. 1025-1032.

7. Kissin E. Y. The effects of intraarticular resiniferatoxin in experimental knee-joint arthritis / Kissin E. Y., Freitas F. C., Kissin I. // *Anesthesia & Analgesia*. – 2005. – V. 101. – P. 1433–1439.
8. 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. – V. 58, № 10. – P. 3110–3119.
9. *McDougall J. J.* Vasoactive intestinal peptide (VIP) is a modulator of joint pain in a rat model of osteoarthritis / *McDougall J. J., Watkins L., Li Z.* // *Pain*. – 2006. – V. 123 – P. 98–105.
10. Videoradiographic analysis of the range of motion in unilateral experimental knee joint arthritis in rats / M. K. Boettger, J. Leuchtweis, H. G. Schaible¹, M. Schmidt // *Arthritis Research & Therapy*. – 2011. – V. 13 (3) : R79. – 11 p. doi: 10.1186/ar3342.

О. С. Попов, С. К. Шебеко, І. А. Зупанець, А. С. Шаламай
Дослідження впливу препарату «Диклокор» на спонтанну больову реакцію в експерименті

Диклокор – це композиційний нестероїдний протизапальний препарат, що поєднує в своєму складі диклофенак натрію в дозі 25 мг і кверцетин у дозі 40 мг.

Мета дослідження – вивчити анальгетичні властивості препарату «Диклокор» шляхом оцінки його впливу на перебіг спонтанної больової реакції в щурів при одноразовому та повторному введенні на фоні розвитку гострого остеоартриту колінного суглоба; порівняти з аналогічними показниками диклофенаку натрію.

Диклокор та препарат порівняння вводили тваринам внутрішньошлунково 1 раз на 1 добу протягом 5 діб у дозах, що відповідають 50 % ефективній дозі за анальгетичною активністю – 12,0 мг/кг для Диклоктору (доза диклофенаку натрію в складі Диклоктору дорівнювала 4,6 мг/кг) та 5 мг/кг для диклофенаку натрію. Препарати вводили у вигляді суспензій, які виготовляли на фізіологічному розчині при додаванні необхідної кількості стабілізатора. Вимірювання інтенсивності спонтанної больової реакції проводили станом на 1, 3 та 5 добу дослідження за 30 хв та через 2 год після введення дослідних засобів. Вимірювання проводили за допомогою «тестера інвалідності» – Incapacitance Tester MkV («Linton Instrumentation», Великобританія). Далі розраховували індекс інвалідності та анальгетичну активність для обох препаратів та проводили статистичну обробку отриманих даних.

Диклокор проявив виражену анальгетичну активність на всіх етапах дослідження. Станом на 5 добу експерименту Диклокор за анальгетичною активністю вірогідно перевищував диклофенак натрію, хоча доза останнього була на 8 % більшою за вміст диклофенаку натрію в Диклокорі. Ймовірно, підвищення анальгетичної активності, що спостерігали в групі Диклоктору, викликане синергетичною дією кверцетину в складі цього лікарського засобу.

Таким чином, отримані дані свідчать, що Диклокор у дозі 12,0 мг/кг як при одноразовому, так і повторному введенні проявив виражений анальгетичний вплив на перебіг спонтанної больової реакції у тварин на тлі розвитку гострого гонартриту, за ступенем якого вірогідно перевершив активність диклофенаку натрію на 5 добу спостереження. Отже, Диклокор є перспективним препаратом для подальшого дослідження.

Ключові слова: Диклокор, диклофенак натрію, кверцетин, остеоартрит, щури, анальгезія

А. С. Попов, С. К. Шебеко, І. А. Зупанець, А. С. Шаламай
Исследование влияния препарата «Диклокор» на спонтанную болевую реакцию в эксперименте

Диклокор – это композиционный нестероидный противовоспалительный препарат, сочетающий в своем составе диклофенак натрия в дозе 25 мг и кверцетин в дозе 40 мг.

Цель исследования – изучение анальгетических свойств препарата «Диклокор» в капсулах путем оценки его влияния на спонтанную болевую реакцию у крыс при однократном и повторном введении на фоне развития острого остеоартрита коленного сустава; сравнение с аналогичными показателями диклофенака натрия.

Диклокор и препарат сравнения вводили животным внутривентрикулярно 1 раз в 1 сутки в течение 5 суток в дозах, соответствующих 50 % эффективной дозе по анальгетической активности – 12,0 мг/кг для Диклокора (доза диклофенака натрия в составе Диклокора равнялась 4,6 мг/кг) и 5 мг/кг для диклофенака натрия. Препараты вводили в виде суспензий, приготовленных на физиологическом растворе при добавлении необходимого количества стабилизатора ТВИН-80. Измерение интенсивности спонтанной болевой реакции проводили на 1, 3 и 5 сутки исследования за 30 мин до и через 2 ч после введения лекарственных препаратов. Измерения проводили с помощью «тестера инвалидности» – Incapacitance Tester MkV («Linton Instrumentation», Великобритания). Далее рассчитывали индекс инвалидности и анальгетическую активность для обоих препаратов с последующей статистической обработкой полученных данных.

Диклокор проявил выраженную анальгетическую активность на всех этапах исследования. По состоянию на 5 сутки эксперимента Диклокор по анальгетической активности достоверно превы-

шал диклофенак натрия, хотя доза последнего была на 8 % больше по содержанию диклофенака натрия, чем в Диклоре. Вероятно, повышение анальгетической активности, которое наблюдалось в группе Диклора, вызвано синергетическим действием кверцетина в составе этого лекарственного средства.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что Диклор в дозе 12,0 мг/кг как при однократном, так и повторном введении проявил выраженный анальгетический эффект при оценке спонтанной болевой реакции у животных на фоне развития острого гонартрита, по степени которого достоверно превзошел активность диклофенака натрия на 5 сутки наблюдения. Итак, Диклор является перспективным препаратом для дальнейшего исследования.

Ключевые слова: Диклор, диклофенак натрия, кверцетин, остеоартрит, крысы, анальгезия

O. S. Popov, S. K. Shebeko, I. A. Zupanets, A. S. Shalamay

Experimental study of the effect of Dicloror on spontaneous pain reaction

The aim of this study was to explore analgesic properties of the drug «Dicloror» by evaluating its effect on spontaneous pain reaction in rats after a single and repeated administrations on the background of acute knee osteoarthritis; to compare it with effect of diclofenac sodium. Dicloror is a composite NSAID combining 25 mg of diclofenac sodium and 40 mg of quercetin.

Acute gonarthrosis of the right rear paw of the rats was induced by intraarticular administration of 25 ml of 2 % solution of λ -carrageenin. Then, the examined object and reference drug were administered to animals intragastrically one time daily for 5 days in doses corresponding to 50 % of the effective dose by analgesic activity – 12,0 mg/kg for Dicloror (dose of diclofenac sodium in Dicloror equal to 4,6 mg/kg) and 5 mg/kg for diclofenac sodium. Preparations were administered as suspensions, which were prepared by adding the required amount of physiological saline and stabilizer TVIN-80. Measurements of the intensity of spontaneous pain reaction was performed at 1, 3 and 5 study day 30 min before and 2 hours after drug administration. Measurements were carried out using the «disability tester» – Incapacitance Tester MkV («Linton Instrumentation», UK). Then, calculations of the disability index and analgesic activity of both drugs were done.

Dicloror showed pronounced analgesic activity at all stages of the study. By 5th day of the experiment, Dicloror significantly exceed diclofenac sodium by analgesic activity, although the dose of the latter was 8 % higher. Probably, enhancement of analgesic activity in the group of Dicloror is due to synergic effect of quercetin in the composition of the drug.

The data obtained indicate that Dicloror at a dose of 12,0 mg/kg, both in single and repeated administrations, showed a pronounced analgesic effect on the course of spontaneous pain response in animals with acute knee osteoarthritis. Dicloror significantly surpassed diclofenac sodium by 5th day of the experiment. Thus, Dicloror has advantages over diclofenac sodium as analgesic and is a promising drug for further study.

Key words: Dicloror, diclofenac sodium, osteoarthritis, rats, analgesia

Надійшла: 23 жовтня 2015 р.

Контактна особа: Попов О. С., асистент, кафедра клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, буд. 27, вул. Пушкінська, м. Харків, 61057.

Електронна пошта: oleksii.s.popov@gmail.com