

УДК 547.857.4:615.015.1:616.8-085.21-092.9

Л. В. ЛУК'ЯНОВА, Г. О. СИРОВА, Р. О. БАЧИНСЬКИЙ,  
Є. Р. ГРАВОВЕЦЬКА, С. А. НАКОНЕЧНА*Харківський національний медичний університет*

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ СПЕЦИФІЧНОЇ ДІЇ ДИКЛОФЕНАК-НАТРІЮ ТА ЙОГО КОМПОЗИЦІЇ З КОФЕЇНОМ

*В експерименті на лабораторних тваринах проведено дослідження впливу кофеїну на антиексудативну, протибольову і жарознижувальну активність відомого нестероїдного протизапального засобу (НПЗЗ) похідного оцтової кислоти диклофенак-натрію (D-Na) у щурів. Аналіз результатів експериментальних досліджень свідчить про те, що кофеїн потенціює антиексудативну і протибольову активність D-Na. Вірогідних змін при вивченні жарознижувальної дії композиції D-Na з кофеїном у порівнянні з моноведенням НПЗЗ не виявлено.*

**Ключові слова:** нестероїдні протизапальні засоби, диклофенак-натрію, кофеїн, фармакологічна композиція, фармакологічна активність, формаліновий набряк.

### ВСТУП

Незважаючи на насиченість фармацевтичного ринку України препаратами груп не стероїдного протизапального засобу (НПЗЗ), пошук нових та модифікації вже відомих препаратів з цієї групи є предметом доклінічних і клінічних досліджень сучасних науковців [1].

В медичній практиці часто застосовують комбіновану фармакотерапію [8, 11, 21, 24]. Виходячи з фізіологічних та біохімічних особливостей кофеїну, введення його до складу комбінованих препаратів, що містять НПЗЗ, ненаркотичні анальгетики (ННА), доцільно на підставі можливості підсилення їх протибольової, антиексудативної дії кофеїном [9, 16, 10, 20, 21, 22, 24, 25, 11]. Відомо багато комбінацій НПЗЗ та ННА з кофеїном, але в фармацевтичній практиці відсутні композиції D-Na з кофеїном. Експериментальні дані, які отримані нами в попередніх дослідженнях, показали доцільність такої комбінації [13, 14, 17].

Тому **метою нашого дослідження** стало вивчення впливу кофеїну на фармакологічну активність НПЗЗ D-Na. Можливість досягнення сильнішої специфічної дії від комбінації кофеїну з D-Na у порівнянні з моноведенням D-Na стала підґрунтям нашого дослідження.

### МЕТОДИ І МЕТОДИ

*Антиексудативну дію* вивчали за допомогою експериментальної моделі формалінового набряку [2]. Ексудативне запалення моделювали шляхом субплантарного введення в задню лапу щура 0,1 мл 2 % розчину формаліну. Об'єм лапи вимірювали за допомогою онкометра за О. С. Захаревським [5] до введення препаратів і на момент максимального розвитку набряку – через 4 години після введення флогену. Збільшення набряку виражали у відносних одиницях. Відсоток пригнічення запалення розраховували за формулою:

$$\% \text{ пригнічення запалення} = \frac{(V_k - V_0)}{V_k} \cdot 100\%,$$

де:  $V_k$  – об'єм лапки у контролі мінус вихідний об'єм цієї лапки до набряку;

$V_0$  – об'єм лапки, яка набрякла в досліді мінус вихідний об'єм цієї лапки.

Тварини були поділені на 3 групи по 6 тварин у кожній. D-Na, його композицію з кофеїном, крохмальний слиз вводили за 1 годину до розвитку максимального набряку. Тварини 1-ї групи були контролем їм однократно внутрішньошлунково вводили 3 % крохмальний слиз (2 мл на 200 г щура). Однократно внутрішньошлунково у вигляді суспензії на 3 % крохмальному слизу вводили тваринам 2-ї групи D-Na (5 мг на 1 кг ваги тварини); 3-ї комбінацію D-Na (5 мг на

1 кг ваги тварини) з кофеїном (0,6 мг на 1 кг ваги тварини). Перерахунок з доз людини на щурів здійснено із використанням коефіцієнту видової чутливості за Риболовцевим Ю. Р. [15].

Вивчення *протибольової дії периферичного генезу* проводилося за скринінговою моделлю «оцтовокислі корчі» [2]. Корчі викликали однократним внутрішньочеревинним введенням 0,6 % розчину оцтової кислоти з розрахунку 1 мл на 100 г щура. Тварини були розділені на 3 групи по 6 тварин в кожній. D-Na і його композицію з кофеїном, а також 3 % крохмальний слиз вводили за 1 годину до введення альгогена. Тварини 1-ї групи були контролем, їм однократно перорально внутрішньошлунково вводили 3 % крохмальний слиз (2 мл на 200 г щура). Тваринами 2-ї та 3-ї груп однократно внутрішньошлунково у вигляді суспензії на 3 % крохмальному слизу вводили D-Na (8 мг на 1 кг ваги тварини) і комбінацію D-Na (8 мг на 1 кг ваги тварини) з кофеїном (0,6 мг на 1 кг ваги тварини) відповідно. За тваринами спостерігали протягом 20 хвилин після введення оцтової кислоти і фіксували кількість корчів у щурів. Аналгетичну активність оцінювали за здатністю НПЗЗ та його композиції з кофеїном зменшувати кількість корчів у дослідних групах тварин порівняно з контрольною і виражали у відсотках. Також порівнювали аналгетичну активність D-Na при моноведенні з аналгетичною активністю при введенні його композиції з кофеїном.

*Жарознижувальну дію* вивчено на моделі «молочної лихоманки». В якості білкового пірогену використано пастеризоване та підігріте до 37-40 °С коров'яче молоко, яке вводили внутрішньом'язово із розрахунку 0,5 мл на 100 г маси тварини [2]. На фоні максимального підвищення температури через 4 години після введення молока вводили лікарський засіб (D-Na) та його комбінацію з кофеїном (лікувальне введення). Реєстрацію ректальної температури проводили в динаміці електротермометром протягом 24 годин спостереження (через 1, 2, 3 години та наприкінці досліду). Розподіл тварин за групами та дозування відбувалося аналогічно дослідженню вивчення антиексудативної дії.

Дослідження проводили на 60 щурах обох статей лінії WAG 210-230 г відповідно до методичних рекомендацій Державного фармакологічного центру МОЗ України [2]. При виборі кількості тварин і розподілі їх за групами враховували економний підхід, біоетичні правила та вимоги статистики. Роботу виконано на лабораторних тваринах з експериментально-біологічної клініки ХНМУ з урахуванням норм зберігання, догляду і годування. Досліди проведено

згідно з етичними вимогами до досліджень у тварин із збереженням свідомості, затвердженими Комітетом з експериментальних досліджень та етичних проблем Міжнародної Асоціації з вивчення болю (LASP) [4] та згідно принципів «Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей» [23] і ухвали Першого національного конгресу з біоетики [18]. Щури утримувалися при стандартних умовах віварію. Досліди проводилися в першій половині дня, що за даними літератури узгоджується із залежністю основних фармакологічних параметрів і фармакологічною активністю прийнятих до дослідження препаратів від циркадних ритмів [3, 6].

Статистичну обробку отриманих даних проводили загальноприйнятими методами [20].

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

*Експериментальне вивчення антиексудативної дії композиції D-Na з кофеїном.* Аналіз результатів експерименту свідчить, що досліджений НПЗЗ D-Na зменшує набряк на 33 %. Композиція D-Na з кофеїном продемонструвала більш інтенсивну антиексудативну активність, вона вірогідно зменшувала формаліновий набряк у порівнянні з контролем ( $P < 0,01$ ). Активність композиції D-Na з кофеїном вірогідно відрізнялася від активності D-Na ( $P < 0,05$ , пригнічення – 47 %), що дозволяє дійти до висновку, що кофеїн здатний підсилювати антиексудативну активність D-Na (табл. 1).

Таким чином, композиція D-Na з кофеїном має виражену антиексудативну активність, отже кофеїн потенціює антиексудативну активність досліджуваного НПЗЗ – D-Na.

*Експериментальне вивчення протибольової дії периферичного генезу композиції D-Na з кофеїном.* Експериментальні дослідження показали, що при моноведенні D-Na спостерігалось вірогідне зменшення кількості корчів у порівнянні з групою контролю ( $P < 0,001$ ), при цьому аналгетичний потенціал склав 39 %.

При використанні фармакологічної композиції D-Na і кофеїну спостерігалось достовірне зменшення корчів як відносно контрольної групи ( $P < 0,001$ ), так і відносно групи моноведення ( $P < 0,001$ ), при цьому аналгетичний потенціал склав 85 % (табл. 2).

Аналіз результатів експериментальних досліджень указує на те, що кофеїн потенціює протибольову дію НПЗЗ D-Na.

*Експериментальне вивчення жарознижувальної дії композиції D-Na з кофеїном.* «Молочна лихоманка» характеризується підвищенням

температури. Максимальне підвищення спостерігалось на 4 години дослідю ( $t_4$ ), (вірогідні зміни у всіх досліджених групах). Гіпертермія зберігалась в контрольній групі протягом 7 годин спостереження, знижувалась наприкінці доби до  $37,1 \pm 0,1$  °C. Зниження температури після введення D-Na вірогідно визначалось відносно  $t_4$  вже через 1 годину спостереження після його

введення, температура повільно знижувалась і доходила до вихідного показника наприкінці дослідю. В групі тварин, яким було введено композицію D-Na з кофеїном через 1 годину спостерігались зміни статистично вірогідні відносно моно введення, далі статистично вірогідних змін не спостерігалось (табл. 3).

Таблиця 1

**ВИВЧЕННЯ АНТИЕКСУДАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ D-NA ТА ЙОГО КОМПОЗИЦІЇ З КОФЕЇНОМ НА МОДЕЛІ ФОРМАЛІНОВОГО НАБРЯКУ У ЩУРІВ (N = 6)**

Групи тварин	Показники		
	об'єм лапи початковий ( $X \pm Sx$ )	об'єм лапи через 4 години після моделювання набряку ( $X \pm Sx$ )	пригнічення набряку, %
Контроль	17,75±1,03	30,50±1,19	-
D-Na	19,25±0,85	27,75±0,85*	33
D-Na + кофеїн	17,00±0,32	23,80±1,2 <sup>*,**</sup>	47

Примітки: \* – різниця вірогідна між контролем та D-Na; \*\* – різниця вірогідна між D-Na та композицією його з кофеїном.

Таблиця 2

**ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ D-NA ТА ЙОГО КОМПОЗИЦІЇ З КОФЕЇНОМ НА ПЕРИФЕРИЧНИЙ КОМПОНЕНТ НОЦИЦЕПТИВНОЇ РЕАКЦІЇ НА МОДЕЛІ ОЦТОВОКИСЛИХ КОРЧІВ У ЩУРІВ (N = 6)**

Групи тварин	Показники	
	кількість корчів	аналгетичний потенціал, %
Контроль	25,17 ± 0,17	-
D-Na	15,33 ± 0,21*	39
D-Na + кофеїн	3,67 ± 0,61 <sup>*,**</sup>	85

Примітки: \* – різниця статистично вірогідна з контролем; \*\* – різниця статистично вірогідна з моно введенням D-Na.

Таблиця 3

**ВИВЧЕННЯ ЖАРОЗНИЖУВАЛЬНОЇ ДІЇ D-NA ТА ЙОГО КОМПОЗИЦІЇ З КОФЕЇНОМ НА МОДЕЛІ «МОЛОЧНА ЛИХОМАНКА» У ЩУРІВ (N=6)**

Показники	Контроль	D-Na	D-Na + кофеїн
Вихідна температура	37,0±0,1	37,0±0,2	37,1±0,2
Температура через 4 години після введення молока ( $t_4$ )	38,0±0,1 <sup>**</sup>	38,2±0,1 <sup>**</sup>	38,4±0,1 <sup>*,**</sup>
Температура через 1 годину після введення лікарського засобу	37,9±0,2 <sup>**</sup>	37,9±0,1 <sup>**</sup>	37,5±0,1*
Температура через 2 години після введення лікарського засобу	37,7±0,1 <sup>**,***</sup>	37,5±0,2 <sup>**,***</sup>	37,6±0,1 <sup>**,***</sup>
Температура через 3 години після введення лікарського засобу	37,6±0,2 <sup>**,***</sup>	37,4±0,1 <sup>**,***</sup>	37,3±0,2 <sup>***</sup>
Температура через 4 години після введення лікарського засобу	37,1±0,1 <sup>***</sup>	36,9±0,1 <sup>***</sup>	37,1±0,1 <sup>***</sup>

Примітки: \* – різниця вірогідна відносно контрольної групи; \*\* – різниця вірогідна відносно вихідної температури; \*\*\* – різниця вірогідна відносно  $t_4$ .

### ВИСНОВКИ

1. У результаті проведених експериментальних досліджень встановлено феномен потенціювання кофеїном антиексудативних і протибольових властивостей D-Na.
2. Композиція дослідженого D-Na з кофеїном має виражену антиексудативну і протибольову активність.
3. Додавання до D-Na кофеїну не сприяє посиленню жарознижувальної дії D-Na.

### ПЕРСПЕКТИВИ

Фармакологічна комбінація D-Na з кофеїном доцільна та перспективна щодо подальшого вивчення.

### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Викторова А. П. Безопасность современных нестероидных противовоспалительных препаратов: между сциллой и харибдой? / А. П. Викторова // Укр. ревматол. журн. – 2002. – № 4(10). – С. 12–22.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. О. В. Стефанова. – К., 2001. – 527 с.
3. Дорогой А. П. К вопросу о хронопатологии, хронотерапии и хронофармакологии / А. П. Дорогой // Актуальные пробл. в соврем. терапии: Сб. научн. тр. – Х. : – 1992. – С. 22-25.
4. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія. – 2003. – № 2 (22). – С. 108-109.
5. Захаревский А. С. Влияние некоторых производных индола на нервную систему: Автореф. дис. ...канд. мед наук. – Минск, 1969. – 78-80 с.
6. Западнюк И. П. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, С. А. Захария. – К. : Вища школа, 1983. – 552 с.
7. Комбинированное применение индометацина и тиапризолина – возможность повышения хондробезопасности НПВС / Е. А. Подплетная, И. А. Мазур, Л. А. Каменская, Л. И. Кучеренко // Фармакология – практическому здравоохранению: матер. III съезда фармакологов России. – С-Пб, 2007. – Т. 7, ч. 2. – С. 1900.
8. Киричок Л. Т. Комбіновані фітопрепарати – нове перспективне джерело фармакотерапії / Л. Т. Киричок, І. В. Трутаєв, Г. Ф. Федорін : матеріали II нац. з'їзду фармакологів

- України, «Фармакологія 2001 – крок у майбутнє», (Дніпропетровськ, 1-4 жовт. 2001 р.) – Дніпропетровськ, 2001. – С. 111.
9. Кофеїн: фізіологічні, біохімічні та квантово-фармакологічні властивості / І. Чекман, Н. Горчакова, Т. Звягінцева [та ін.] // Вісник фармакології та фармації. – 2009. – № 6. – С. 2-7.
  10. Машковский М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – М. : ООО «Новая Волна», 2007. – Т. 1. – С. 42–43, 120-121.
  11. Медико-биологическая статистика: [пер. с англ. / под ред. С. Гланц] – М. : Практика, 1998. – 459 с.
  12. Новая комбинация фармакологически активных веществ на гелевой основе для использования при инструментальных урологических вмешательствах / Л. П. Ларионов, В. Д. Бурда, В. Н. Журавлев [и др.] // Фармакология – практическому здравоохранению: матер. III съезда фармакологов России. – СПб, 2007. – Т. 7, ч. 1. – С. 1762.
  13. Пат. № 59396 Україна, МПК А61К31/00. Застосування композицій нестероїдних протизапальних засобів з кофеїном як препаратів з антиексудативною активністю / Г. О. Сирова, Є. Р. Грабовецька, Л. Г. Шаповал, Н. В. Вакуленко, Є. П. Бойко; заявник та патентовласник Харківський Національний медичний університет (Україна). – № 201013704; заявл. 18.11.10; опубл. 10.05.11, Бюл. № 9.
  14. Пат. № 56451 Україна А61К31/519. Спосіб посилення анальгетичної дії периферичного генезу нестероїдних протизапальних і протиревматичних засобів, похідних оцтової та пропіонової кислот / Г. О. Сирова, Р. О. Бачинський, В. М. Петюніна, О. В. Савельєва, Є. П. Бойко; заявник та патентовласник Харківський Національний медичний університет (Україна). – № 201009656; заявл. 02.08.10; опубл. 10.01.11, Бюл. № 1.
  15. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности. / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев – Доклады АН СССР. – 1979. – № 6. – С. 1513-1516.
  16. Сирова Г. О. Вивчення потенціюючих протибольових властивостей кофеїну в експерименті / Г. О. Сирова, Т. В. Звягінцева // XII конгрес Світової федерації українських лікарських товариств. – Івано-Франківськ, 2008. – С. 454.
  17. Сирова Г. О. Експериментальне вивчення антиексудативної дії композицій диклофенаку натрію та ібупрофену з кофеїном /

- Г. О. Сирова, Є. Р. Грабовецька, Л. Г. Шаповал, Є. П. Бойко // *Експериментальна і клінічна медицина*. – № 2 (51). – 2011. – С. 53–55.
18. Сучасні проблеми біоетики / [відп. ред. Ю. І. Кундієв] – К. : «Академперіодика», 2009. – 278 с.
  19. Фармакологія церебропротекторів в виде фиксированных комбинацій / В. И. Мамчур, В. И. Жилюк, С. Н. Дронов [и др.] // «Фармакологія – практичному здравоохранию» : [матер. III сьезда фармакологів Росії]. – С-Пб, 2007. – Т. 7, ч. 2. – С. 1847.
  20. Caffeine as an analgesic adjuvant. A double-blind study comparing aspirin with caffeine to aspirin and placebo in patients with sore throat / B. P. Schachatel, J. M. Fillingim, A. C. Lane [et al.] // *J. Clin. pharmacol.* – 2007. – № 47. – P. 860-870.
  21. Effect of caffeine on antinociceptive action of ketoprofen in rats / M. I. Diaz-Reval, R. Ventura-Martinez, G. P. Hernandez-Delgado, A. M. Dominguez-Ramirez // *Arch. Med. Res.* – 2001. – Vol. 32, № 1. – P. 13–20.
  22. Evaluation of cytochrome P450 probe substrates commonly used by the pharmaceutical industry to study in vitro drug interactions / R. Yuan, S. Madani, X. Wei, K. Reynolds // *Drug Metab. Dispos.* – 2002. – Vol. 30. – P. 1311–1319.
  23. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – № 123. – 51 p.
  24. Goldstein J. Caffeine and headache: Friendly fire or enemy fire? / J. Goldstein // *National Headache Foundation*. – 2007. – № 189. – P. 2310.
  25. Potentiation of the anti-inflammatory and analgesic activity of aspirin by caffeine in the rat / R. E. Vinegar, J. F. Erikson, J. L. Selph, R. M. Welch // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* – 1976. – Vol. 151. – P. 556-560.
  26. Zhang W. Y. Do codeine and caffeine enhance the analgesic effect of aspirin? A systematic overview / W. Y. Zhang, A. L. Po // *J. Clin. Pharm. Ther.* – 1997. – № 22 (2). – P. 79-97.

**УДК 547.857.4:615.015.1:616.8-085.21-092.9**

**Л. В. Лукьянова, А. О. Сырвая, Р. О. Бачинский, Е. Р. Грабовецкая, С. А. Наконечная**  
**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ**  
**ДИКЛОФЕНАК-НАТРИЯ И ЕГО КОМПОЗИЦИИ С КОФЕИНОМ**

В эксперименте на лабораторных животных проведены исследования влияния кофеина на антиэкссудативную, противоболевую и жаропонижающую активность известного нестероидного противовоспалительного средства производного уксусной кислоты D-Na у крыс. Анализ результатов экспериментальных исследований показывает, что кофеин потенцирует антиэкссудативную и противоболевую активность D-Na. Статистических изменений при изучении жаропонижающего действия композиции D-Na с кофеином в сравнении с моновведением НПВС не выявлено.

**Ключевые слова:** нестероидные противовоспалительные средства, диклофенак-натрия, кофеин, фармакологическая комбинация, фармакологическая активность, формалиновый отек.

**UDC: 547.857.4:615.015.1:616.8-085.21-092.9**

**L. V. Lukyanova, A. O. Syrovaya, R. O. Bachinsky, E. R. Grabovetskaya, S. A. Nakonechnaya**  
**EXPERIMENTAL RESEARCH OF SPECIFIC ACTIVITY OF DICLOFENAC**  
**SODIUM AND ITS COMPOSITION WITH CAFFEINE**

Influence of caffeine on anti-inflammation, analgesic, and antipyretic activities of known NSAID D-Na in rats has been carried out. Analysis of experimental results indicates that caffeine potentiates anti-inflammation and analgesic activities of D-Na. There were no statistical variations in antipyretic activity of D-Na in combination with caffeine as compare to introduction of pure NSAID.

**Key words:** non-steroidal anti-inflammatory drugs, diclofenac sodium, caffeine, pharmacological combination, pharmacological activity, formalin edema.

*Адреса для листування:*  
61022, м. Харків, пр. Леніна, 4.  
Кафедра медичної та біоорганічної хімії ХНМУ.  
Тел.: (057) 707-73-07, (050) 606 92 50.  
E-mail: medchem1@rambler.ru

Надійшла до редакції:  
22.10.2012