

С. І. Трутаєв, С. Ю. Штриголь, С. А. Гращенко, І. О. Лебединець

Аналгетична дія субстанції зирилону на моделі болю з переважно центральним механізмом ноцицепції та її модуляція адренотропними препаратами

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: зирилон
(2,4-дихлорбензойної кислоти калієва
сіль), аналгетична дія, механізми
ноцицепції, клонідин, пропранолол, миші

Лікарські препарати аналгетичної дії формують один з найбільших сегментів фармацевтичного ринку. Зважаючи на поширеність скарг на біль, який супроводжує більшість патологічних процесів, його суттєвий вплив на працездатність та якість життя, недостатню результативність методів подолання хронічного болю, створення нових високоактивних знеболювальних препаратів з високим ступенем безпечності залишається актуальним завданням [1]. У цьому аспекті привертає увагу зирилон (2,4-дихлорбензойної кислоти калієва сіль), який є високоактивним аналгетиком та протизапальним засобом. За терапевтичним індексом він перевершує метамізол натрію та диклофенак натрію [2]. Для лікування мігрені запропоновано комбінацію 2,4-дихлорбензойної кислоти калієвої солі з кофеїном і карбамазепіном [3, 4]. Зирилон може ефективно поєднуватися зі спазмолітиками, прикладом є таблетки «Долосан Форте®», створені на ПАТ «ХФЗ «Червона зірка», до складу яких входять пітофенону гідрохлорид та фенпіверинію бромід. Вони характеризуються високою активністю та достатнім рівнем безпечності [5, 6]. Тривають дослідження зі створення інших комбінацій, що містять зирилон, фармакодинаміка яких доповнена нейропротекторною дією та іншими видами активності. З огляду на ці дані, зирилон – перспективна субстанція, поглиблене дослідження фармакодинаміки якої є доцільним.

Мета дослідження – визначити аналгетичну дію зирилону на моделі болю в тесті «гаряча пластина» та оцінити участь у ній α - та β -адренергічних механізмів ноцицепції.

Матеріали та методи. Досліди проведено з дотриманням правил Конвенції Ради ЄС з питань захисту тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, за схвалення комісії НФаУ з біоетики. Догляд за тваринами та маніпуляції проводили відповідно до стандартних операційних процедур ЦНДЛ НФаУ.

Використано безпородних мишей-самців віком 3,5–4,0 міс, масою тіла (20 ± 2) г, розведення ФООП Шаповалов О. Ю. Центральні механізми аналгетичної дії вивчали на моделі «гаряча пластина» з використанням термостатичної бані. Рандомізацію тварин проводили за вихідним значенням латентного періоду (ЛП), який визначали двічі, розраховуючи середнє значення. Тварин, у яких ЛП перевищував 8 с, до експерименту не включали [7]. Реакцію тварин на подразнення (підстрибування, облизування або струшування задньої лапи) реєстрували у секундах на гарячій пластині (+ 52 °C). З метою мінімізації пошкоджень тканин час перебування тварин на гарячій пластині обмежували 20–30 с.

Оцінювали ефективність зирилону (субстанцію отримано на ПАТ «ХФЗ «Червона зірка») *per se* порівняно з класичним аналгетиком метамізолом натрію (таблетки «Анальгін-Дарниця», ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця»). Визначали участь α_2 - та β -адренергічних процесів у механізмах його дії. Для цього обрано препарати з добре вивченими механізмами аналгетичної

дії – α_2 -адреноміметик клонідину гідрохлорид («Клофелін-Дарниця», ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця») та β -адреноблокатор пропранололу гідрохлорид (ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я»), які вводили окремо або в комбінації з зирилоном. Останній використано в дозі 5 мг/кг, яка чинить найвираженішу анагетичну дію в складі таблеток «Долосан Форте®» [5], натрію метамізол – у дозі 50 мг/кг [8], пропранололу гідрохлорид – у дозі 4 мг/кг, клонідину гідрохлорид – у дозі 10 мкг/кг доочередивно за обох режимів введення. Використані дози α_2 -адреноміметика та β -адреноблокатора забезпечують достатній вплив на адренорецептори в експерименті [9, 10]. Тварини групи модельної патології (МП) отримували розчинник в аналогічному об'ємі.

Оцінювали зміни больового порога після введення досліджуваних сполук у динаміці – через 30, 60, 120 і 180 хв, розраховували площу під кривою (AUC, с/3 год) у програмі «MedCalc».

Результати проаналізовано за допомогою програми Statistica-6. Дані представлено у вигляді М ($M_{\min} \div M_{\max}$), для оцінки міжгрупових розбіжностей використовували метод Крускала-Уолліса та критерій Манна-Уїтні.

Результати та їх обговорення. У тварин групи МП ЛП реакції на термічне подразнення як на початку досліджу, так і протягом усього терміну спостереження суттєво не змінювався (таблиця). На тлі зирилому та натрію метамізолу реєстрували статистично значуще збільшення часу реакції впродовж усіх 3 год, що свідчить про виражену анагетичну дію.

Ефективність зирилому була наявною в усі терміни (достовірні розбіжності з групою МП), показник AUC порівняно з групою МП зростав у 1,8 разу (рис. 1). На тлі натрію метамізолу ЛП збільшувався в динаміці (серія 2), що було більш вираженим на 2 та 3 год порівняно з даними групи зирилому (таблиця), показник AUC перевищував такий у групі МП у 2,8 разу. Проте слід відзначити, що доза натрію метамізолу в 10 разів вища, ніж доза зирилому. Ці результати узгоджуються з відомими даними щодо високої актив-

ності зирилому як *per se* [2], так і в комбінації зі спазмолітиками [5].

Клонідину гідрохлорид також виявляв виразну анагетичну активність, однак вона розпочиналася повільніше, достовірні відмінності від показника групи МП наявні лише з 1,5 год. Відомо, що цей препарат виявляє знеболювальний ефект при ноцицептивних стимулах термічної, електричної та хімічної природи. Фармакологічний аналіз з використанням антагоністів показав, що анагезію під впливом клонідину гідрохлориду забезпечує провідна ланка механізму його дії – активація центральних постсинаптичних α_2 -адренорецепторів, опіатні рецептори не залучені до цього ефекту [7, 11, 12].

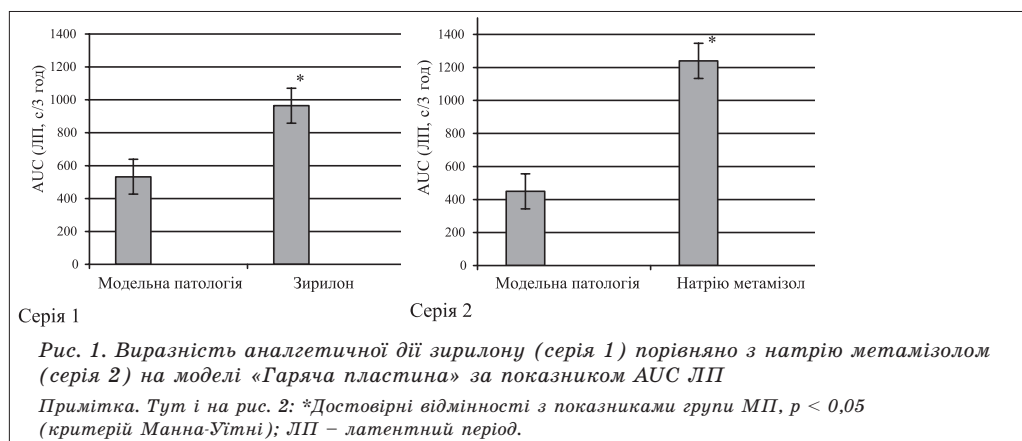
За виразністю дії клонідину гідрохлорид та зирилон є зіставляваними (достовірних відмінностей між показниками цих груп немає, таблиця). За комбінованого введення цих препаратів, як і на тлі зирилому *per se*, больова чутливість тварин знижувалася вже з 1 год досліджу, анагетичний ефект зберігався в усі терміни спостереження, за вираженістю він не відрізнявся від такого в групах тварин, якими зирилон та клонідину гідрохлорид вводили в режимі монотерапії. За інтегральним показником AUC ЛП суттєвих відмінностей між групами також немає (рис. 2). Отже зирилон не блокує α -адренергічні механізми знеболення, але й не виявляє синергізму з центральним агоністом α_2 -адренорецепторів.

Відомо, що β -адренорецептори беруть участь у регуляції больової чутливості, а β -адреноблокатор пропранололу гідрохлорид виявляє анагетичну дію [7, 11, 12]. Цю дію виявлено й у нашому дослідженні (таблиця): суттєвий достовірний ефект реєстрували з 1,5 год спостереження, він зберігався до кінця досліджу на високому рівні. За комбінованого застосування зирилому та пропранололу гідрохлориду відбувалося зростання анагетичної дії. Хоча розбіжності між цією групою та групою тварин, яким вводили зирилон *per se*, не сягали статистичної значущості, виразну тенденцію спостерігали в усі терміни, особливо на 2 год (таблиця, $p = 0,065$). За інтегральним показником

Аналгетична дія субстанції зирилону, пропранололу гідрохлориду, клонідину гідрохлориду та натрію метамізолу на моделі «Гаряча пластина» у мишей, $n = 6$ М (Min ÷ Max)

Група тварин	Тривалість латентного періоду, с				
	вихідне значення	1,0 год	1,5 год	2,0 год	3,0 год
1 серія					
Модельна патологія	2,72 (1,12 ÷ 4,32)	2,84 (0,75 ÷ 4,93)	3,14 (0,82 ÷ 5,52)	3,26 (0,51 ÷ 5,97)	2,74 (0,60 ÷ 4,88)
Зирилон, 5 мг/кг	3,64 (2,97 ÷ 4,62)	4,84 (3,67 ÷ 5,95) $p_1 = 0,0260$	5,85 (4,60 ÷ 7,97) $p_1 = 0,0152$	6,37 (4,94 ÷ 9,25) $p_1 = 0,0152$	5,83 (4,85 ÷ 6,81) $p_1 = 0,0043$
Клонідину гідрохлорид, 10 мкг/кг	2,94 (2,23 ÷ 3,90)	3,77 (3,03 ÷ 4,92) $p_1 = 0,3095$ $p_2 = 0,0931$	4,96 (4,03 ÷ 6,20) $p_1 = 0,0260$ $p_2 = 0,2403$	8,03 (5,35 ÷ 10,60) $p_1 = 0,0043$ $p_2 = 0,1320$	5,70 (2,94 ÷ 8,71) $p_1 = 0,0260$ $p_2 = 0,6991$
Зирилон, 5 мг/кг + клонідину гідрохлорид, 10 мкг/кг	4,18 (2,58 ÷ 5,18)	5,39 (3,99 ÷ 6,79) $p_1 = 0,0087$ $p_2 = 0,4848$	6,76 (3,69 ÷ 8,78) $p_1 = 0,0043$ $p_2 = 0,2403$	6,29 (3,59 ÷ 7,99) $p_1 = 0,0152$ $p_2 = 0,8182$	5,90 (3,10 ÷ 7,23) $p_1 = 0,0087$ $p_2 = 0,5887$
Пропранололу гідрохлорид, 4 мг/кг	2,88 (2,09 ÷ 3,65)	3,84 (3,09 ÷ 5,18) $p_1 = 0,2403$ $p_2 = 0,0931$	6,95 (6,04 ÷ 8,65) $p_1 = 0,0022$ $p_2 = 0,0931$	6,67 (5,98 ÷ 7,89) $p_1 = 0,0022$ $p_2 = 0,4848$	6,37 (5,54 ÷ 7,70) $p_1 = 0,0022$ $p_2 = 0,2403$
Зирилон, 5 мг/кг + пропранололу гідрохлорид, 4 мг/кг	4,01 (3,42 ÷ 5,52)	5,82 (3,91 ÷ 7,88) $p_1 = 0,0043$ $p_2 = 0,1797$	7,52 (4,53 ÷ 9,18) $p_1 = 0,0043$ $p_2 = 0,1320$	8,45 (7,06 ÷ 10,6) $p_1 = 0,0022$ $p_2 = 0,0649$	6,70 (5,03 ÷ 7,94) $p_1 = 0,0022$ $p_2 = 0,1320$
2 серія					
Модельна патологія	2,18 (1,87 ÷ 2,73)	1,83 (1,44 ÷ 2,28)	2,19 (1,41 ÷ 3,50)	2,40 (1,09 ÷ 4,91)	4,26 (1,73 ÷ 5,05)
Натрію метамізол, 50 мг/кг	2,53 (1,58 ÷ 3,74)	3,60 (2,49 ÷ 4,41) $p_1 = 0,0022$	6,23 (5,25 ÷ 7,40) $p_1 = 0,0022$	8,56 (5,92 ÷ 11,14) $p_1 = 0,0022$	14,31 (11,54 ÷ 17,19) $p_1 = 0,0022$

Примітка. p_1 – рівень статистичної значущості порівняно з групою модельної патології (критерій Манна-Уїтні); p_2 – рівень статистичної значущості порівняно з групою, що отримувала монотерапію зирилоном (критерій Манна-Уїтні).



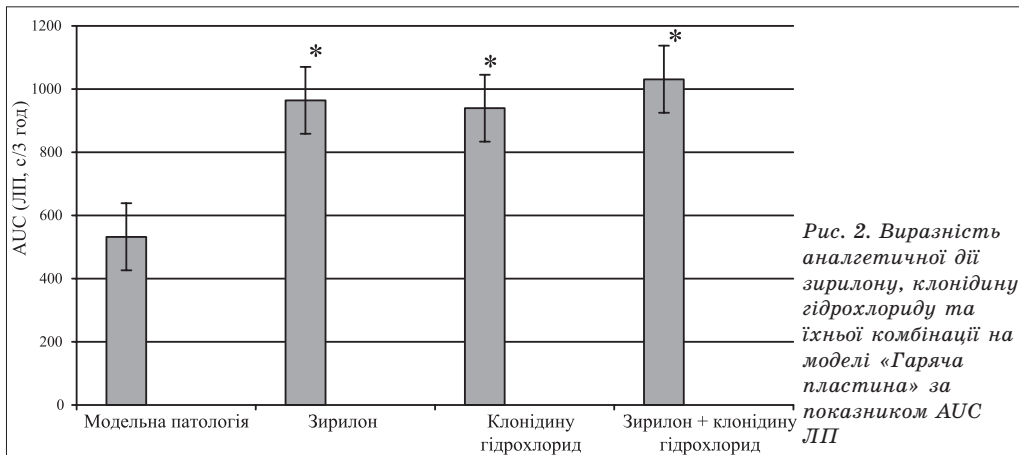


Рис. 2. Виразність аналгетичної дії зирилону, клонідину гідрохлориду та їхньої комбінації на моделі «Гаряча пластина» за показником AUC ЛП

AUC ЛП зазначені групи розрізнялися вірогідно (рис. 3). Отже, результати експерименту свідчать про синергізм аналгетичної активності зирилону та пропранололу гідрохлориду та розширюють уявлення щодо властивостей зирилону, адже відомо, що ця речовина виявляє синергізм з кофеїном та карбамазепіном на моделі з периферичним механізмом ноцицепції [3, 4].

Особливості аналгетичної дії пропранололу гідрохлориду широко обговорюються в літературі. Клінічно доведено здатність пропранололу до зменшення болю в післяопераційному періоді за включення до схем загальної анестезії [13]. У здорових добровольців пропранолол помірно зменшує інтенсивність болю при тепловому подразненні, причому цей ефект наявний лише в тих осіб, у котрих не відбувається зниження АТ [14]. Спрямованість дії пропра-

нололу на центральні механізми ноцицепції в експерименті може бути неоднозначною. У тесті, подібному до методики «гарячої пластини», пропранолол блокує антиноцицептивний ефект, спричинений електростимуляцією медіального чи центрального ядра амігдали щурів [15]. Також відомо, що β -адренорецептори беруть участь у периферичній ноцицепції: пропранолол протидіє посиленому сприйняттю болю в мурчаків при електростимуляції на тлі норадреналіну [16]. Доведена здатність пропранололу викликати місцево-анестезувальний ефект, який посилюється клонідином [17]. Можливо, що β -адренергічні механізми не є провідними у реалізації дії зирилону, тому його фармакодинаміка може сприятливо доповнюватися модуляцією механізмів ноцицепції, притаманною пропранололу.

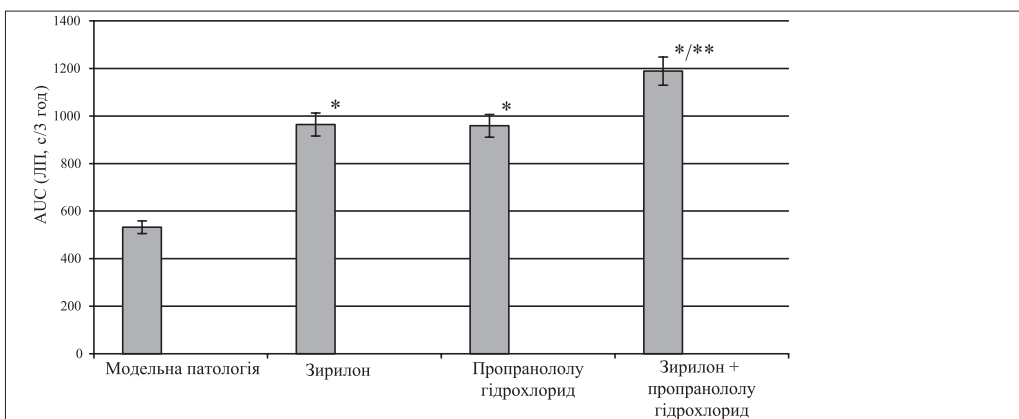


Рис. 3. Виразність аналгетичної дії зирилону, пропранололу гідрохлориду та їхньої комбінації на моделі «Гаряча пластина» за показником AUC ЛП

Примітка. *Достовірні відмінності з показниками групи модельної патології, $p < 0,05$ (критерій Манна-Уїтні), **достовірні відмінності з показниками групи тварин, яким вводили зирилон *per se*, $p < 0,05$ (критерій Манна-Уїтні), ЛП – латентний період.

Висновки

1. Зирилон (2,4-дихлорбензойної кислоти калієва сіль) у дозі 5 мг/кг виявляє високу анальгетичну активність на моделі «Гаряча пластина». Натрію метамізол чинить виразнішу

дію, однак у десятиразово вищій дозі – 50 мг/кг.

2. Анальгетичний ефект зирилону не змінюється у комбінації з клонідину гідрохлоридом (10 мкг/кг) та достовірно посилюється за поєданого введення з пропранололу гідрохлоридом (4 мг/кг).

1. *Wolkerstorfer A.* New approaches to treating pain / A. Wolkerstorfer, N. Handler, H. Buschmann // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2016. – V. 26, № 4. – P. 1103–1119.
2. *Яковлева Л. В.* Порівняльна характеристика фармакологічної дії в ряді похідних бензойної кислоти / Л. В. Яковлева, О. М. Шаповал, Є. Я. Левітін // *Вісник фармації.* – 2001. – № 3 (27). – С. 172–173.
3. *Сирова Г. О.* Експериментальне та квантово-хімічне обґрунтування створення комбінованого протизапального препарату: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора фарм. наук: спец. 14.03.05 «Фармакологія» / Сирова Ганна Олегівна; *Національний фармацевтичний університет.* – Харків, 2011. – 40 с.
4. Пат. № 29770 на кор. модель, UA, МПК А61К 31/00. Застосування мігреліну як речовини з протибольовими властивостями / Киричок Л. Т., Сирова Г. О., Звягінцева Т. В. та ін. – № 11045; заявл. 25.01.08; опубл. 05.10.07, Бюл. № 2.
5. Експериментальне вивчення анальгетичної, протизапальної та спазмолітичної активності таблеток «Долосан Форте» / С. І. Трутаєв, С. Ю. Штриголь, Є. О. Ковальова, Ю. Ю. Штриголь // *Фармаком.* – 2016. – № 2. – С. 50–54.
6. The results of the acute toxicity studies of «Dolosan Forte®» tablets / S. I. Trutaev, Yu. B. Laryanovska, Yu. Yu. Shtrygol', I. O. Kovalova // *Український біофармацевтичний журнал.* – 2016. – № 6 (47). – С. 50–54.
7. Доклінічні дослідження лікарських засобів; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – Київ: ВД «Авіцена», 2001. – 528 с.
8. *Довженок І. А.* Дослідження анальгетичної та протизапальної активності рослинних зборів з хвощем польовим / І. А. Довженок, Б. А. Самура // *Вісник фармації.* – 2003. – № 3. – С. 71–73.
9. *Бондарев Е. В.* Експериментальний аналіз ролі адрено- и холинорецепторів во фриго-протекторном действии глюкозамина гидрохлорида / Е. В. Бондарев, С. Ю. Штрыголь // *Вестник фармації.* – 2015. – № 1 (67). – С. 78–82.
10. *Штрыголь С. Ю.* Модуляція фармакологічних ефектів при різних сольових режимах / С. Ю. Штрыголь. – Харьков : Авіста-ВЛТ, 2007. – 360 с.
11. *Нейропсихофармакологія болеутоляючих засобів*; под ред. проф. Ю. Д. Игнатова. – Ленинград, 1986. – 179 с.
12. *Брагин Е. О.* Нейрохимические механизмы регуляции болевой чувствительности / Е. О. Брагин. – Москва : Изд-во УДН, 1991. – 248 с.
13. Beta-adrenergic antagonists during general anesthesia reduced postoperative pain: a systematic review and a meta-analysis of randomized controlled trials / L. Härkänen, J. Halonen, T. Selander, H. Kokki // *J. Anesth.* – 2015. – V. 29, № 6. – P. 934–944.
14. Effects of intravenous propranolol on heat pain sensitivity in healthy men / P. Schweinhardt, Y. B. Abulhasan, V. Koeva [et al.] // *Eur. J. Pain.* – 2013. – V. 17, № 5. – P. 704–713.
15. *Oliveira M. A.* Antinociception induced by stimulating amygdaloid nuclei in rats: changes produced by systemically administered antagonists / M. A. Oliveira, W. A. Prado // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 1998. – V. 31, № 5. – P. 681–690.
16. *Nakamura M.* Mechanism of peripheral pain in the conscious guinea pig: effect of propranolol / M. Nakamura, M. C. Lico // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 1986. – V. 19, № 3. – P. 451–453.
17. Clonidine as an adjuvant for propranolol enhances its effect on infiltrative cutaneous analgesia in rats / C. H. Hung, C. C. Chiu, K. S. Liu [et al.] // *Neurosci Lett.* – 2016. – V. 616. – P. 70–74.

С. І. Трутаєв, С. Ю. Штриголь, С. А. Гращенкова, І. О. Лебединець **Анальгетична дія субстанції зирилону на моделі болю з переважно центральним механізмом ноцицепції та її модуляція адренотропними препаратами**

Зирилон (2,4-дихлорбензойної кислоти калієва сіль) є високоактивним анальгетичним та протизапальним засобом з високим рівнем безпечності. З метою розширення уявлень про фармакодинаміку зирилону досліджено його анальгетичну дію на моделі болю з переважно центральним механізмом ноцицепції (тест «гаряча пластина» у мишей) за введення в режимі монотерапії (у дозі 5 мг/кг) та за поєданого введення з пропранололу гідрохлоридом (4 мг/кг) або клонідину гідрохлоридом (10 мкг/кг). Підтверджено високу анальгетичну активність зирилону *per se* (препарат порівняння натрію метамізол виявляв виразнішу дію, однак у десятиразово вищій дозі – 50 мг/кг), яка не змі-

нуються в комбінації з клонідину гідрохлоридом та достовірно посилюється за поєданого введення з пропранололу гідрохлоридом. Таким чином, зирилон не блокує α -адренергічні механізми знеболення, але й не виявляє синергізму з центральним агоністом α_2 -адренорецепторів на відміну від блокатора β -адренорецепторів. Створення препаратів анальгетичної дії на основі зирилону є перспективним.

Ключові слова: зирилон (2,4-дихлорбензойної кислоти калієва сіль), анальгетична дія, механізми ноцицепції, клонідин, пропранолол, миші

С. И. Трутаев, С. Ю. Штрыголь, С. А. Гращенкова, И. А. Лебединец
Анальгезирующее действие субстанции зирилон на модели боли с преимущественно центральным механизмом ноцицепции и его модуляция адренотропными препаратами

Зирилон (2,4-дихлорбензойной кислоты калиевая соль) – высокоактивное анальгетическое и противовоспалительное средство с высокой степенью безопасности. С целью расширения сведений о фармакодинамике зирилон исследовано его анальгетическое действие на модели боли с преимущественно центральным механизмом ноцицепции (тест «горячая пластина» у мышей) при введении в режиме монотерапии (в дозе 5 мг/кг) и при сочетанном введении с пропранолола гидрохлоридом (4 мг/кг) или клонидина гидрохлоридом (10 мкг/кг). Подтверждена высокая анальгетическая активность зирилон *per se* (препарат сравнения натрия метамизол проявлял более выраженное действие, однако в дозе 50 мг/кг, десятикратно превышающей дозу зирилон), которая не изменялась в комбинации с клонидина гидрохлоридом и достоверно усиливалась при сочетанном введении с пропранолола гидрохлоридом. Таким образом, зирилон не блокирует α -адренергические механизмы обезболевания, но и не проявляет синергизма с центральным агонистом α_2 -адренорецепторов в отличие от блокатора β -адренорецепторов. Создание препаратов анальгетического действия на основе зирилон перспективно.

Ключевые слова: зирилон (2,4-дихлорбензойной кислоты калиевая соль), анальгезирующее действие, механизмы ноцицепции, клонидин, пропранолол, мыши

S. I. Trutaev, S. Yu. Shtrygol', S. A. Grashchenkova, I. A. Lebedinetz
Analgesic action of zirilon substance on the model of pain with predominantly central nociception mechanism and its modulation by adrenergic drugs

Zirilon (2,4-dichlorobenzoic acid potassium salt) is a highly effective analgesic and anti-inflammatory agent with a high level of safety. In order to increase our understanding of zirilon pharmacodynamics, its analgesic effect was studied on the model of pain with predominantly central mechanism of nociception (the hot plate test in mice) using monotherapy with zirilon (5 mg/kg) or its combined administration with propranolol hydrochloride (4 mg/kg) or clonidine hydrochloride (10 mcg/kg). The high analgesic activity of zirilon has been confirmed (the reference drug sodium metamizole exhibited a more pronounced effect, still its dose was tenfold higher than the dose of zirilon). This activity was not changed after combined administration with clonidine hydrochloride and was significantly enhanced when combined with propranolol hydrochloride. Thus, zirilon does not block α -adrenergic mechanisms of analgesia, but also does not show synergistic action with the central agonist of α_2 -adrenoreceptors, in contrast to the β -adrenoreceptor blocker. The further development of analgesic drugs with zirilon is expedient.

Key words: zirilon (2,4-dichlorobenzoic acid potassium salt), analgesic action, nociception mechanisms, propranolol, clonidine, mice

Надійшла: 24 квітня 2017 р.

Контактна особа: Штрыголь Сергій Юрійович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел. +38 0 57 706 30 69. Електронна пошта: farmacol@nuph.edu.ua, shtrygol@mail.ru