Міністерство охорони здоров’я України
Національний фармацевтичний університет

ТИМЧЕНКО ОЛЬГА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 615.246.9+615.212+615.276]:615.451.3

ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ДОЦІЛЬНОСТІ СТВОРЕННЯ НОВИХ ПРЕПАРАТІВ НАЛОКСОНУ ТА КЕТОРОЛАКУ У ФОРМІ НАЗАЛЬНИХ СПРЕЇВ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2015

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», м. Харків

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор
ЛЯПУНОВ Микола Олександрович,
ДНУ «НТК «Інститут монокристалів» НАН України»,
заслужений науковий консультант

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
ЦУБАНОВА Наталя Анатоліївна,
Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету МОЗ України, професор кафедри загальної фармації та безпеки ліків

доктор фармацевтичних наук
БОРИСЮК Ірина Юріївна,
Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України, старший науковий співробітник відділу фізико-хімічної фармакології

Захист відбудеться «11» березня 2016 р. о 12^{00} годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету за адресою: 61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4.

Автореферат розісланий «8» лютого 2016 р.

В. о. вченого секретаря
спеціалізованої вченої ради Д. 64.605.03,
д. фарм. н., професор **К.Г. Щокіна**

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Ефективна невідкладна терапія гострих станів не завжди може бути проведена із використанням ін'єкційного шляху введення лікарських речовин, альтернативою якому може бути інтраназальне (і/н) введення (H. Costantino et al., 2007; C. Bitter et al., 2011), що завдяки добрим абсорбуючим властивостям слизової оболонки носової порожнини здатне забезпечувати швидке надходження лікарської речовини до системного кровообігу із досягненням терапевтичних концентрацій. І/н введення має низку переваг, зокрема: відсутність ефекту «першого проходження» крізь печінку із можливим підвищенням біодоступності (M. Parvathi, 2012), зменшенням побічних ефектів з боку шлунково-кишкового тракту (ШКТ); зручність та простота застосування, які ведуть до підвищення комплаентності пацієнтів, що, в свою чергу, сприяє підвищенню ефективності лікування (C. Bitter et al., 2011; S. Upadhyay et al., 2011), можливість трансепітеліального транспорту лікарської речовини безпосередньо до оболонок мозку (A. Pires et al., 2009; C. Bitter et al., 2011).

Автори деяких публікацій вважають за перспективне і/н застосування блокатора опіоїдних рецепторів налоксону для невідкладної терапії при опіоїдних передозуванннях (A. Kelly et al., 2005; E. Barton et al., 2005; H. Ashton, Z. Hassan, 2006). І/н введення дозволяє значно полегшити застосування налоксону при лікуванні передозувань опіоїдами, поліпшує профіль безпеки препарату, дозволяє запобігти мікробного зараження, можливого при ін'єкційному введенні, а також значно знижує ризик інфікування медичного персоналу соціально небезпечними хворобами (H. Ashton, Z. Hassan, 2006; T. Robertson et al., 2009; M. Merlin et al., 2010). Проте, незважаючи на позитивний досвід і/н застосування налоксону, у світовій номенклатурі його препарати для і/н введення у формі спрею відсутні, що зумовлює актуальність розробки препарату налоксону у лікарській формі (ЛФ) спрею назального.

І/н введення лікарських засобів також перспективне для іншого виду невідкладної допомоги, а саме для усунення гострого больового синдрому. Для цього використовують як опіоїди, так і нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ), зокрема кеторолаку трометамол, що є ненаркотичним засобом тамування гострого болю у пацієнтів, які потребують знеболення опіоїдного рівня (S. McAleer et al., 2007; C. Brown et al., 2009; N. Singla et al., 2010). І/н введення кеторолаку у формі спрею завдяки простоті та зручності перспективне для надання допомоги на догоспітальному етапі та для знеболювання, що контролюється пацієнтом; воно має також сприяти зменшенню тяжкості та частоти побічних ефектів цього НПЗЗ щодо ШКТ (C. Brown et al., 2009; N. Singla et al., 2010; K. Boyer et al., 2010).

Препарат *SPRIX® спрей назальний* («Roxro Pharma», США) – перший лікарський засіб кеторолаку для і/н введення (D. Tepper, 2013). Але цей препарат має істотний недолік – обмежений термін зберігання (1 доба після відкриття флакону), що суттєво підвищує вартість лікування і ускладнює його застосування на догоспітальному етапі. У вересні 2015 р. в Україні зареєстровано препарат *Аспрікс спрей назальний*, що містить кеторолаку трометамін (ТОВ «НВФ «Мікрохім», реєстраційне свідоцтво UA/14621/01/01 від 21.09.2015), проте у науковій літературі немає даних щодо його фармако-токсикологічних властивостей та показників фармакокінетики, зокрема, біодоступності. Крім того, наразі обидва зазначені препарати відсутні на

фармацевтичному ринку України, хоча потреба у ненаркотичному знеболенні є вкрай гострою (M. Davis et al., 2009; E. Green et al., 2010).

Слід відзначити, що порівняльні дані щодо біодоступності налоксону і кеторолаку, їх фармакологічної активності та безпеки при і/н застосуванні та інших шляхах введення вкрай обмежені. Це зумовлює необхідність проведення всебічних комплексних фармако-токсикологічних досліджень з метою обґрунтування доцільності створення відповідних препаратів у формі назальних спреїв, а також для удосконалення наукового підходу до фармацевтичної розробки лікарських засобів для і/н введення різної спрямованості дії, що необхідні для надання невідкладної допомоги у критичних ситуаціях.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертацію виконано у рамках планових науково-дослідних робіт Державного підприємства «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції» за темами № 11-2011 від 02.03.2011 «Доклінічне дослідження лікарського препарату Налоксон спрей», № 79-2011 від 07.12.2011 «Розробка та доклінічне дослідження лікарського препарату Кеторолак спрей» та № 02-2014-Т/Ф від 18.04.2014 «Доклінічне дослідження препаратів». Дисертант є співвиконавцем робіт.

Мета та задачі дослідження. *Мета роботи* – експериментальне фармакологічне обґрунтування створення препаратів налоксону та кеторолаку системної дії у формі назальних спреїв для підвищення ефективності та безпеки невідкладної допомоги при опіоїдних передозуваннях та больовому синдромі відповідно.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні *задачі:*

1. Дослідити фармакокінетику налоксону у кролів при і/н інстиляції порівняно з ін’єкційним шляхом введення.

2. З’ясувати виразність антагоністичних ефектів налоксону при і/н введенні порівняно з ін’єкційним введенням щодо токсичної депримуючої дії та терапевтичної анальгетичної дії морфіну.

3. Визначити показники безпеки налоксону при і/н введенні.

4. Дослідити фармакокінетику кеторолаку у кролів при і/н інстиляції розроблюваного препарату та препарату SPRIX® («Roxro Pharma», США) порівняно із ін’єкційним введенням розчину кеторолаку для ін’єкцій.

5. З’ясувати виразність анальгетичної та протизапальної дії препаратів кеторолаку при і/н введенні порівняно із ін’єкційним введенням розчину кеторолаку для ін’єкцій.

6. Визначити показники безпеки кеторолаку при і/н введенні.

Об’єкт дослідження. Гострі опіоїдні передозування та гострий больовий синдром.

Предмет дослідження. Фармакологічні властивості препаратів налоксону та кеторолаку у формі назальних спреїв.

Методи дослідження. У роботі використані фармакокінетичні, фармакологічні, токсикологічні, гістологічні, статистичні методи досліджень.

Наукова новизна одержаних результатів. Удосконалено науковий підхід до фармацевтичної розробки лікарських препаратів системної дії у ЛФ назального спрею шляхом проведення порівняльних експериментальних досліджень фармако-

кінетики, специфічної дії та безпеки при і/н та інших шляхах введення. За результатами комплексних фармакологічних досліджень теоретично обґрунтована та експериментально доведена доцільність створення препаратів налоксону та кеторолаку у формі назальних спреїв для підвищення ефективності та безпеки невідкладної допомоги при опіоїдних передозуваннях та больовому синдромі відповідно.

Розроблено новий метод кількісного визначення налоксону в крові для проведення фармакокінетичних досліджень. Вперше досліджено фармакокінетику налоксону у кролів при і/н введенні та за результатами фармакокінетичних досліджень обґрунтовано оптимальний вміст налоксону у назальному спреї та його дозу.

Вперше досліджена виразність специфічної фармакологічної активності налоксону у щурів при і/н введенні. Доведено, що виразність фармакологічних ефектів налоксону при і/н введенні щурам становить 78,8-103,3 % відносно ефектів при внутрішньом'язовому (в/м) введенні.

Доповнені наукові дані щодо фармакокінетики кеторолаку у кролів при і/н введенні. На підставі даних фармакокінетичних досліджень доведена перевага розробленого назального спрею кеторолаку за показником біодоступності порівняно з препаратом SPRIX® спрей назальний («Roxro Pharma», США).

Вперше досліджена виразність специфічної фармакологічної активності кеторолаку у щурів при і/н введенні. Доведено, що при і/н інстиляції щурам в умовах експериментального болю різної етіології та запалення кеторолак виявляє характерні анальгетичний та протизапальний ефекти, виразність яких становить 79,4-89,1 % відносно активності кеторолаку при в/м ін'єкції.

Вперше визначені показники безпеки налоксону та кеторолаку при і/н введенні лабораторним тваринам. Доведено, що при і/н інстиляціях лабораторним тваринам налоксон та кеторолак характеризуються доброю переносимістю та не чинять значної місцевоподразнювальної дії.

Практичне значення одержаних результатів. Експериментально оґрунтовано склади двох препаратів, що містять налоксону гідрохлорид та кеторолаку трометамол, у формі назальних спреїв для і/н введення системної дії, призначених для надання невідкладної медичної допомоги при гострому опіоїдному передозуванні та гострому больовому синдромі відповідно. Результати проведених комплексних фармако-токсикологічних досліджень розроблених препаратів включені до звітів щодо їх фармацевтичної розробки та доклінічного вивчення, які долучені до складу реєстраційних досьє на ці препарати.

Отримано дозвіл на проведення I фази клінічних досліджень препарату Кеторолак спрей назальний (лист № 23/589 від 27.08.2015 р. ВАТ «Мосхімфармпрепарати ім. Н. А. Семашко»; дозвіл на проведення клінічних досліджень № 464 від 26.08.2015 р. МОЗ РФ).

Розроблено новий метод кількісного визначення налоксону в крові для фармакокінетичних досліджень, який впроваджено у науково-виробничий процес відділу фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України (протокол № 1 від 15.01.2015 р.) і відділу фармакокінетики ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» (протокол № 4 від 21.04.2015 р.).

Особистий внесок здобувача. Дисертація є особистою науковою працею ав-

тора. Разом з науковим керівником визначено мету і задачі дослідження, обрано методи дослідження, проведено аналіз та узагальнення одержаних результатів. Здобувачем проведено: патентно-інформаційний пошук і аналіз літератури, планування і виконання експериментальних досліджень, математичні розрахунки та статистичну обробку даних, їх аналіз та систематизацію, підготовку публікацій до друку. Фармацевтичну розробку препаратів здійснювали спільно з завідувачем лабораторії рідких та м'яких лікарських засобів і аерозолів ДП «ДНЦЛЗ», канд. фарм. наук О. П. Безуглою; фармакокінетичні дослідження виконані спільно з провідним науковим співробітником сектору фармакокінетики лабораторії загальної фармакології ДП «ДНЦЛЗ», канд. біол. наук В. В. Лібіною, дослідження безпеки – спільно з завідувачем лабораторії промислової та лікарської токсикології (ЛПЛТ) ДП «ДНЦЛЗ», канд. біол. наук Н. С. Нікітіною, а гістологічні дослідження – спільно зі старшим науковим співробітником ЛПЛТ ДП «ДНЦЛЗ», канд. біол. наук Т. В. Деєвою.

Апробація результатів дисертації. Результати роботи були оприлюднені та обговорені на: VI Британсько-Українському симпозіумі із міжнародною участю «Анестезіологія та інтенсивна терапія: уроки минулого та погляд у майбутнє» (Київ, 2012), Національному конгресі «Клінічна фармація: 20 років в Україні» (Харків, 2013), Третій науково-практичній конференції «Безпека та нормативно-правове супроводження лікарських засобів: від розробки до медичного застосування» (Київ, 2013), XIV З'їзді Всеукраїнського лікарського товариства (Одеса, 2015), II Українському симпозіумі з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної ортопедії та травматології» (Дніпропетровськ, 2015).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 12 наукових праць, з них: 5 статей у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 1 стаття у закордонному науковому фаховому виданні, 6 тез доповідей.

Обсяг та структура дисертації. Дисертація містить вступ, огляд літератури, опис матеріалів та методів дослідження, 4 розділи власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, висновки та перелік використаних джерел у кількості 297 найменувань, з них 63 кирилицею, 234 – латиницею. Роботу викладено на 177 сторінках друкованого тексту, враховуючи 25 рисунків, 28 таблиць.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи досліджень. Схема та основні етапи дослідження наведені на рис. 1.

Об'єктами досліджень були препарати Налоксон, спрей назальний, що містив 10 мг/мл налоксону гідрохлориду, та Кеторолак, спрей назальний, що містив 157,5 мг/мл кеторолака трометамолу.

Досліджувані препарати вводили і/н у вигляді розчинів, що містили діючі речовини разом з допоміжними речовинами, шляхом закрапування за допомогою мікрошприца, що забезпечувало індивідуальне дозування лікарських речовин у відповідності до маси тіла кожної експериментальної тварини.

Для порівняльних досліджень використовували препарати: для і/н введення – SPRIX® спрей назальний («Roxro Pharma», США); для ін'єкційного введення – На-

локсон, розчин для ін'єкцій 0,4 мг/мл («Варшавський фармацевтичний завод Польфа АТ», Польща) та Кеторолак, розчин для в/м введення 30 мг/мл (ВАТ«Мосхімфармпрепарати» ім. Н.А. Семашко, РФ).

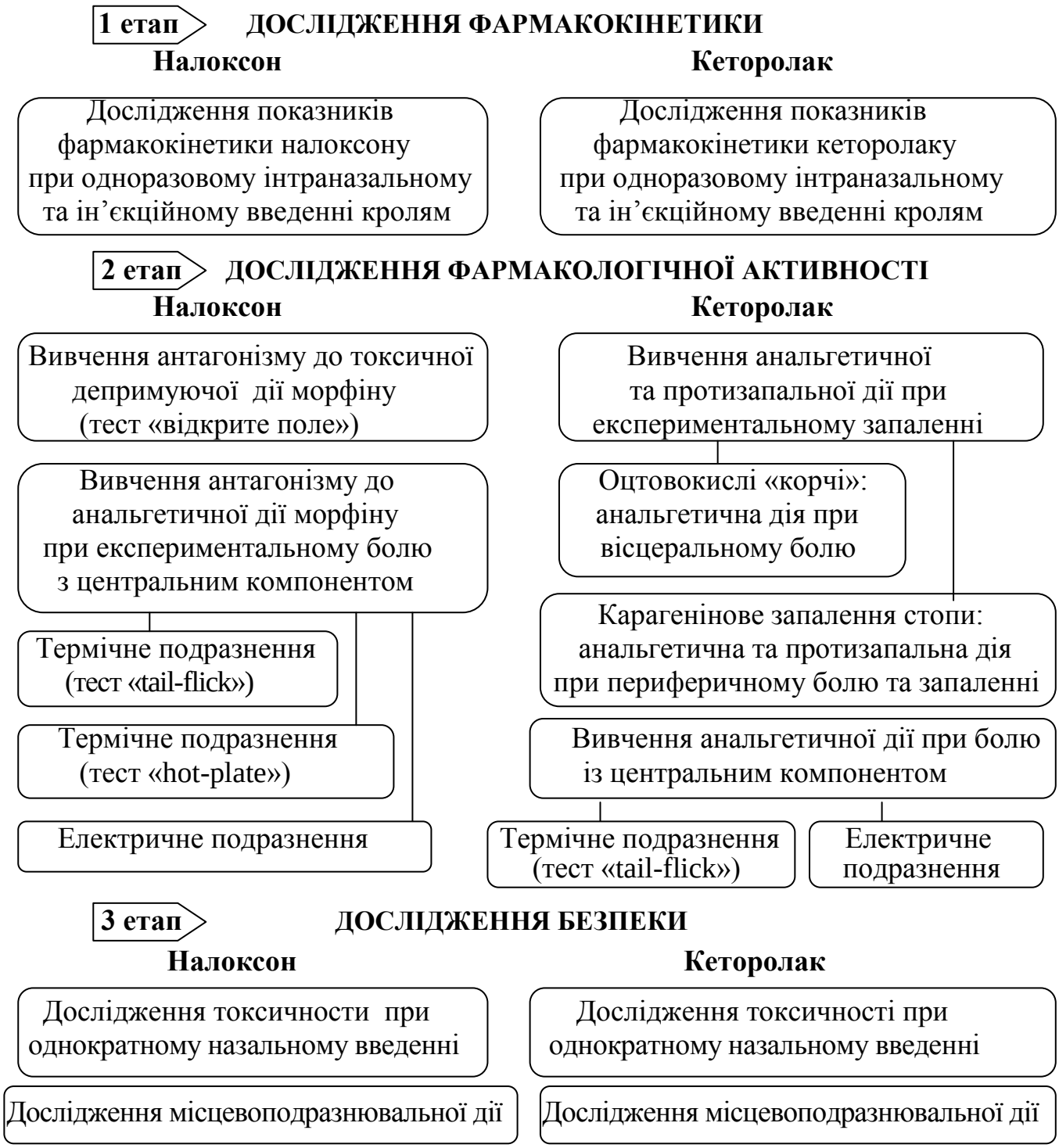

Рис. 1. Основні етапи та методи дослідження

Дози препаратів були розраховані за діючими речовинами та обрані з урахуванням даних літератури щодо діапазонів ефективних доз налоксону (Е. В. Коболев, 2002; А. В. Надорова и соавт., 2009; U. Guenther et al., 2009; U. Guenther et al., 2010) і кеторолаку (M. Buckley, R. Brogden, 1990; R. Anikwue et al., 2002; О. Є. Ядловський,

2009) в експерименті. Об'єми препаратів, що вводили, не перевищували максимально припустимих за відповідних шляхів введення (В. М. Коваленко та співавт., 2001).

Дослідження виконані на 49 статевозрілих кролях породи шиншила обох статей, 470 статевозрілих щурах лінії Вістар обох статей та 20 статевозрілих нелінійних мурчаках обох статей, які утримувалися у стандартних умовах віварію ДП «ДНЦЛЗ» відповідно до «Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними» (Ю. М. Кожем'якин та співавт., 2002).

Дослідження проведені з дотриманням правил Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, (Страсбург, 1985) і Настанови СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008 «Лікарські засоби. Належна лабораторна практика». Біоетичні аспекти дослідження погоджені Комітетом з біоетики ДП «ДНЦЛЗ» (протоколи № 13 від 12.07.2011, № 17 від 13.09.2011, № 18 від 27.09.2011, № 10 від 22.05.2012, № 17 від 11.09.2012, № 17 від 09.09.2014).

Дослідження фармакокінетики проведені згідно Методичних рекомендацій «Доклінічне вивчення фармакокінетики лікарських засобів» (М. Я. Головенко та співавт., 2001) при однократному і/н введенні налоксону та кеторолаку кролям порівняльно з однократним внутрішньовенним (в/в) та/або в/м введенням.

При фармакокінетичному дослідженні налоксон вводили і/н у дозах 0,6 мг/кг, 1,2 мг/кг та 1,8 мг/кг, а в/в та в/м у дозі 0,6 мг/кг. Для кількісного визначення концентрації налоксону в плазмі крові кролів використовували розроблений нами метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з попередньою твердофазною екстракцією (Supel^{TM} – Select HLB) налоксону з плазми та концентруванням проби під вакуумом. Нижня межа кількісного визначення налоксону в плазмі склала 10 нг/мл.

При фармакокінетичному дослідженні кеторолак вводили в дозі 2 мг/кг при і/н та в/м шляхах введення. Для кількісного визначення кеторолаку в плазмі крові кролів використовували модифікований метод ВЕРХ з попередньою твердофазною екстракцією кеторолаку з плазми і концентруванням проби під вакуумом (В. В. Либина и соавт., 2011). Нижня межа кількісного визначення кеторолаку в плазмі – 40 нг/мл.

Рівняння калібрувальних кривих налоксону та кеторолаку розраховували за допомогою програми STATISTICA 6.0 (Copyright® StatSoft Inc.). Параметри фармакокінетики розраховували модельно-незалежним методом на підставі усереднених концентрацій за допомогою програми WinNonLin (Pharsight Corp., США).

Дослідження специфічної фармакологічної активності налоксону та кеторолаку проводили при однократному і/н введенні щурам порівняно з однократним в/м введенням у відповідних дозах.

Дослідження специфічної протиопіоїдної активності налоксону проведені відповідно до «Методичних рекомендацій з вивчення налоксоноподібної активності фармакологічних речовин» (В. М. Булаев и соавт., 2005). Активність налоксону оцінювали за послабленням депримуючої дії токсичної дози (100 мг/кг, підшкірно) морфіну у тесті «відкрите поле» (H. Vogel, W. Vogel, 1997; T. Gould, 2009) за показниками функціонального стану центральної нервової системи (ЦНС) щурів, а також за пригніченням анальгетичної дії терапевтичної дози (10 мг/кг, підшкірно) морфіну за умов болю з центральним компонентом: при термобольовому (тести «tail-flick», «hot plate») та електробольовому подразненні у щурів (О. В. Стефанов, 2001).

Специфічна фармакологічна активність кеторолаку як НПЗЗ досліджена відповідно до Методичних рекомендацій «Пошук та експериментальне вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як ненаркотичні анальгетики» (М. А. Мохорт та співавт., 2001) за умов експериментального болю та запалення, патогенез яких включає як активацію біосинтезу простагландинів (оцтовокислі «корчі» щурів, карагенінове запалення стопи щурів), так і за умов болю з центральним компонентом – термобольове (тест «tail-flick») та електробольове подразнення щурів (H. Vogel, W. Vogel, 1997; О. В. Стефанов, 2001; D. LeBars et al., 2001).

Дослідження безпеки налоксону та кеторолаку при і/н введенні проведені за показниками токсичності при одноразовій і/н інстиляції відповідно до Методичних рекомендацій «Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів» (В. М. Коваленко та співавт., 2001) та місцевоподразнювальної дії при повторних і/н інстиляціях щурам. Стан слизової оболонки носової порожнини тварин оцінювали макроскопічно та за допомогою світлової мікроскопії згідно Методичних рекомендацій «Доклінічне вивчення місцевоподразнювальної дії лікарських засобів» (В. М. Коваленко, А. Г. Ципкун, 2007). Виразність порушень морфоструктури слизової оболонки носу тварин оцінювали за 5-бальною шкалою.

Статистичну обробку результатів дослідження фармакологічної активності налоксону та кеторолаку проводили загальноприйнятими у фармакології методами: середнє значення ($\bar{X}$) та стандартна помилка (SE), достовірність відмінностей визначали за t-критерієм Ст'юдента на рівні значущості не менш 95 % ($p \leq 0,05$) (В. Ю. Урбах, 1975; С. Н. Лапач и соавт., 2000). При оцінюванні ефекту препарату у динаміці визначали сумарний ефект як площину під кривою «час-ефект» методом трапецій (Г. В. Ващенко, 2008). Для співставлення ефектів при і/н та в/м введенні препаратів визначали узагальнений ефект (E_{total}), який розраховували як площу під кривою дозозалежності ефекту. Середні ефективні дози ($ЕД_{50}$) розраховували методом Б. М. Штабського (Б. М. Штабский и соавт., 1980).

Результати досліджень та їх обговорення.

Дослідження препарату Налоксон, спрей назальний. Перший етап дослідження препарату полягав у визначенні біодоступності та інших параметрів фармакокінетики при і/н введенні кролям з метою визначення оптимального вмісту налоксону у препараті та його дози, що забезпечать при і/н введенні співставний з ін'єкційним введенням рівень налоксону у плазмі крові.

Валідація методики кількісного визначення налоксону у плазмі крові засвідчила її відповідність встановленим критеріям прийнятності для біоаналітичних хроматографічних методик (В.Т. Чумак та співавт., 2009).

При і/н введенні концентрація налоксону в плазмі крові швидко зростала, вочевидь, завдяки його швидкій абсорбції слизовою оболонкою носової порожнини кролів (рис. 2). При і/н введенні налоксону в дозі 0,6 мг/кг його вміст у плазмі був низьким. При збільшенні доз до 1,2 мг/кг і 1,8 мг/кг концентрація налоксону в плазмі зростала до рівня, співставного з рівнем вмісту налоксону в плазмі при в/м введенні, а після досягнення максимальної концентрації (C_{max}) – до рівня, співставного з рівнем його вмісту в плазмі при в/в введенні (рис. 2). Швидкість всмоктування, що характеризується відношенням C_{max} до площини під фармакокінетичною кривою

впродовж періоду спостереження $AUC_{0\to t}$ ($C_{max}/AUC_{0\to t}$), при і/н інстиляції налоксону перевищувала таку при в/м ін'єкції в 1,3-1,7 рази (табл. 1), що свідчить про доцільність і/н введення налоксону для надання невідкладної допомоги.

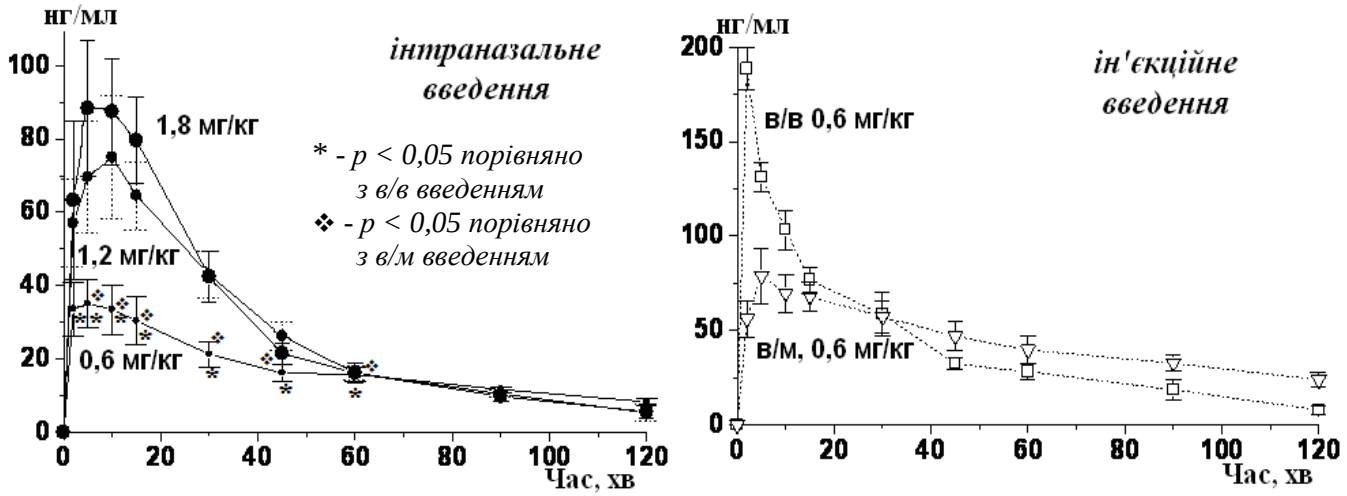

Рис. 2. Динаміка концентрації налоксону в плазмі крові кролів після однократного і/н, в/в та в/м введення.

Таблиця 1

Основні фармакокінетичні параметри налоксону при однократному в/в, в/м та і/н введенні кролям (n = 5)

Параметри фармакокінетики	Величини параметрів при різних шляхах введення (доза, мг/кг)				
	в/в (0,6)	в/м (0,6)	і/н (0,6)	і/н (1,2)	і/н (1,8)
C_{max} (C_0), нг/мл	240,20	78,79	35,06	74,97	88,34
T_{max}, хв.	-	5	5	10	5
K_{el}, хв$^{-1}$	0,0218	0,0098	0,0106	0,0240	0,0178
$T_{1/2}$, хв	31,83	70,91	65,35	28,91	39,02
MRT, хв	32,84	48,83	91,82	34,56	32,04
Cl_T, мл/хв×кг	110,61	77,84	208,70	346,86	478,39
$AUC_{0\to t}$, нг×хв/мл	5184,73	5273,64	1803,65	3236,84	3446,29
$C_{max}/AUC_{0\to t}$, хв$^{-1}$	-	0,0149	0,0194	0,0232	0,0256
f′, %	100	101,71	34,8	62,4	66,57
f_D′, %	100	101,71	34,8	31,2	22,2

Примітка. n – кількість тварин у групі тут і надалі.

Час досягнення максимальної концентрації налоксону в плазмі крові (T_{max}) при і/н та в/м введенні становив 5-10 хв. При і/н введенні в діапазоні доз 0,6÷1,2 мг/кг C_{max} налоксону та $AUC_{0\to t}$ зростали прямо пропорційно дозі (табл. 1). Налоксон при і/н, а також при в/в та в/м введенні нетривало циркулював у крові і швидко елімінував, про що свідчать співставні показники середнього часу утримання препарату в крові (MRT) та періоду напіввиведення ($T_{1/2}$); спостерігалася тенденція до прискорення екскреції препарату зі зростанням і/н дози. Швидке всмоктування налоксону у системний кровообіг з подальшою достатньо швидкою елімінацією відповідало, як і при в/в та в/м введенні, двокамерній моделі фармакокінетики. Абсолютна біодосту-

пність налоксону при і/н введенні кролям (f′) склала 34,8 % та прямо пропорційно зростала в діапазоні доз 0,6÷1,2 мг/кг.

На підставі визначеної біодоступності розрахували оптимальну разову і/н дозу налоксону ($D_{і/н}$) та його оптимальний вміст у назальному спреї, що забезпечують терапевтичну еквівалентність налоксону при і/н та ін'єкційному введенні. Розрахунок $D_{і/н}$ здійснений за запропонованою нами формулою: $D_{і/н} = (D \times 100) : f'$, де D – терапевтична ін'єкційна доза налоксону (0,4 мг). Розрахована $D_{і/н}$ склала 1,2 мг, що, з урахуванням об'єму разової і/н інстиляції людині (100 мкл) дало підставу встановити в назальному спреї оптимальний вміст налоксону 1,2 %.

Метою другого етапу було дослідження фармакологічних властивостей налоксону при і/н введенні, що проведене за показниками протиопіоїдної дії за впливом на специфічні ефекти токсичної дози та терапевтичної дози морфіну.

Морфін-індукована седація щурів призводила до виразного пригнічення ЦНС тварин із достовірним ($p < 0,05$) скороченням рухової активності у 3,9 рази, числа поведінкових реакцій – в 14,9 рази, вегетативних реакцій – в 3,3 рази, інтегральної активності ЦНС (сума попередніх показників) – в 4,8 рази (табл. 2).

Таблиця 2

Пригнічуючий ефект налоксону на морфін-індуковану седацію щурів в тесті «відкрите поле» (n = 8)

Групи	Доза налоксону, мг/кг	Рухова активність	Дослідницькі реакції	Вегетататативні реакції	Інтегральна активність
Контроль 1 (інтактні)	—	43,1±3,7 / —	14,9±1,9 / —	3,3±0,8 / —	61,3±3,6 / —
Контроль 2 (патологія)	—	11,0±2,4[1] / —	1,0±0,5[1] / —	1,0±0,4[1] / —	12,9±2,6[1] / —
Патологія + налоксон і/н	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	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	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	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	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. У чисельнику – значення показника,
2. У знаменнику – фармакологічний ефект, %.
3. [1], [2] – $p < 0,05$ порівняно з контролями 1 та 2 відповідно.

При однократному і/н введенні в дозах 0,2 мг/кг, 1 мг/кг та 3 мг/кг налоксон дозозалежно послаблював морфін-індуковане пригнічення ЦНС щурів, про що свід-

чило менш значне пригнічення рухової активності та більш значуще збереження поведінкових та вегетативних реакцій тварин. Ефекти налоксону при і/н введенні були співставні із такими при в/м введенні у відповідних дозах. При і/н і в/м введенні налоксон відновлював переважно дослідницькі та вегетативні реакції і менш значно – рухову активність (табл. 2). Розрахована за впливом на інтегральну активність ЦНС $ЕД_{50}$ налоксону при і/н введенні становила 2,6 (1,3÷3,8) мг/кг, що достовірно не відрізнялось від $ЕД_{50}$ = 2,0 (0,8÷3,2) мг/кг при в/м введенні. Загалом, у даному тесті ефект налоксону при і/н введенні недостовірно поступався ефекту при в/м ін'єкції.

В умовах терапевтичної анальгетичної дії морфіну в тесті «tail-flick» налоксон при і/н інстиляції, як і при в/м введенні, послаблював анальгезію, дозозалежно скорочуючи морфін-індуковане підвищення порогу больової чутливості (ПБЧ) (рис. 3).

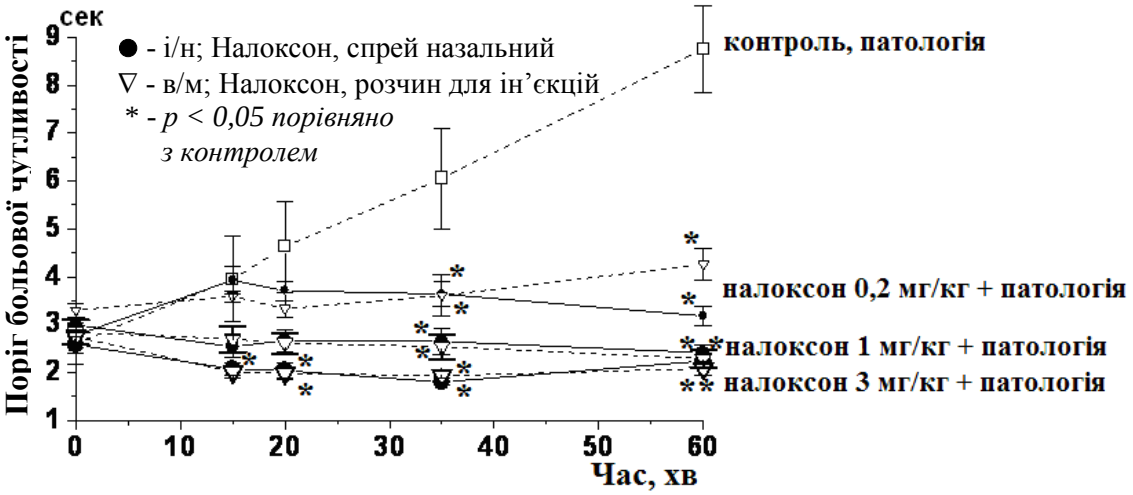

Рис. 3. Динаміка порогу больової чутливості щурів в тесті «tail-flick» під впливом морфіну та налоксону при і/н та в/м введенні.

Сумарні антагоністичні ефекти ($АнтЕ_{\Sigma}$) налоксону при і/н введенні в дозі 0,2 мг/кг були співставними з $АнтЕ_{\Sigma}$ при в/м введенні, а у дозах 1 мг/кг та 3 мг/кг майже ідентичними з відповідним $АнтЕ_{\Sigma}$ при в/м ін'єкції. $ЕД_{50}$ налоксону при і/н та в/м введеннях, розраховані за ефектами на 20 хв, не мали достовірних розрізнень (табл. 3).

Таблиця 3

Динаміка антагоністичного ефекту налоксону на морфін-індуковану анальгезію у щурів в тесті «tail-flick» (n = 8)

Групи	Доза налоксону, мг/кг	Пригнічення анальгезії (%) через . . . хв після введення				$АнтЕ_{\Sigma}$ (%×хв)	$ЕД_{50}$, мг/кг
		15	20	35	60		
Налоксон і/н	0,2	0,5	19,9	39,9	63,7	1798,3	2,2 (0,7÷3,8)
	1	35,7	42,3	56,3	72,5	2812,3	
	3	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	2,1 (0,1÷4,0)
	1	31,6	43,6	58,1	73,9	2837,8	
	3	49,1	57,2	68,2	76,3	3390,8	

Примітка. $ЕД_{50}$ розраховані за ефектами на 20-ту хвилину.

В тесті «tail-flick» встановлено нелінійний характер дозозалежності АнтЕ$_\Sigma$ налоксону із насиченням в дозі, що вище за 1 мг/кг, що частково може бути зумовлене обмеженням всмоктування діючої речовини з носової порожнини і підтверджується дозозалежністю C_{max} та AUC налоксону при і/н введенні, що також характеризується насиченням в дозі, що вище за 1,2 мг/кг.

В тестах «hot plate» та електробольового подразнення налоксон при і/н і в/м введенні також послаблював морфін-індуковану анальгезію, дозозалежно і достовірно ($p < 0,05$) скорочуючи підвищення ПБЧ. В тесті «hot plate» АнтЕ$_\Sigma$ налоксону при і/н введенні в дозах 0,2 мг/кг та 1 мг/кг (4572,0 %×хв і 5060,3 %×хв відповідно) були співставними з АнтЕ$_\Sigma$ при в/м введенні (3917,3 %×хв і 5409,0 %×хв відповідно). При електробольовому подразненні АнтЕ$_\Sigma$ налоксону при і/н введенні у тих самих дозах становили відповідно 2598,8 %×хв і 2740,5 %×хв і майже дорівнювали АнтЕ$_\Sigma$ при в/м введенні (2778,8 %×хв і 3213,8 %×хв відповідно).

Співвідношення фармакологічної активності налоксону на підставі E_{total} при і/н та в/м введенні (табл. 4) свідчить про значно більшу подібність їхніх ефектів (78,8÷103,3 %), ніж відносна біодоступність налоксону при і/н введенні кролям (31,9÷33,3 %). Це може бути зумовлено підсиленням фармакологічної активності препарату внаслідок його абсорбції ольфакторним епітелієм носової порожнини з надходженням до мозкових оболонок поза системним кровообігом.

Таблиця 4

Співвідношення фармакологічної активності налоксону при і/н та в/м введенні

Тест	E_{total} налоксону:		Відносна активність налоксону при і/н введенні, %
	і/н введення	в/м введення	
Морфінова седація	102,8	130,5	78,8
Термобольове подразнення («tail-flick»)	8027,5	8193,9	98,0
Термобольове подразнення («hot plate»)	3852,9	3730,5	103,3
Електробольове подразнення	2125,7	2397,0	89,1

На третьому етапі дослідження при вивченні безпеки налоксону при і/н введенні доведено, що його однократна і/н інстиляція щурам в дозах 7,6 мг/кг та 38,0 мг/кг не викликає суттєвого порушення загального стану та поведінкових реакцій, не впливає на динаміку маси тіла і на стан внутрішніх органів, не викликає загибелі тварин. При 7-денних і/н інстиляціях щурам в дозах 4 мг/кг і 8 мг/кг налоксон не виявляв місцевоподразнювальної дії та не призводив до деструктивних явищ слизової оболонки носової порожнини тварин.

Загалом, встановлені співставні показники фармакологічної протиопіоїдної активності налоксону при і/н та в/м введенні щурам. У комплексі із дослідженнями безпеки, які свідчать про добру переносимість налоксону при і/н введенні щурам та відсутність місцевоподразнювальної дії при повторних і/н інстиляціях, проведений комплекс фармакокінетичних та фармако-токсикологічних досліджень доводить доцільність створення оригінального препарату Налоксон спрей назальний з його по-

дальшим впровадженням у медичну практику.

Дослідження препарату Кеторолак, спрей назальний. Перший етап дослідження, враховуючи оригінальний склад допоміжних речовин розроблюваного препарату, полягав у визначенні біодоступності та інших параметрів фармакокінетики кеторолаку при його і/н введенні порівняно з і/н введенням препарату SPRIX® спрей назальний і в/м введенням розчину кеторолаку.

Валідація методики кількісного визначення кеторолаку у плазмі крові засвідчила її відповідність встановленим критеріям прийнятності для біоаналітичних хроматографічних методик (В.Т. Чумак та співавт., 2009).

При і/н введенні кролям кеторолак добре абсорбувався, але на відміну від в/м ін'єкції при і/н інстиляції на фармакокінетичній кривій не було виразного піку, а близькі до C_{max} концентрації зберігалися до 1,5 год, формуючи «плато» на кривій. При і/н введенні розробленого препарату достовірно менші концентрації кеторолаку порівняно з в/м введенням ($p < 0,05$) спостерігалися з 0,5 год по 1 год, а при введенні спрею SPRIX® – дещо триваліше: з 0,17 год по 1,5 год після введення (рис. 4).

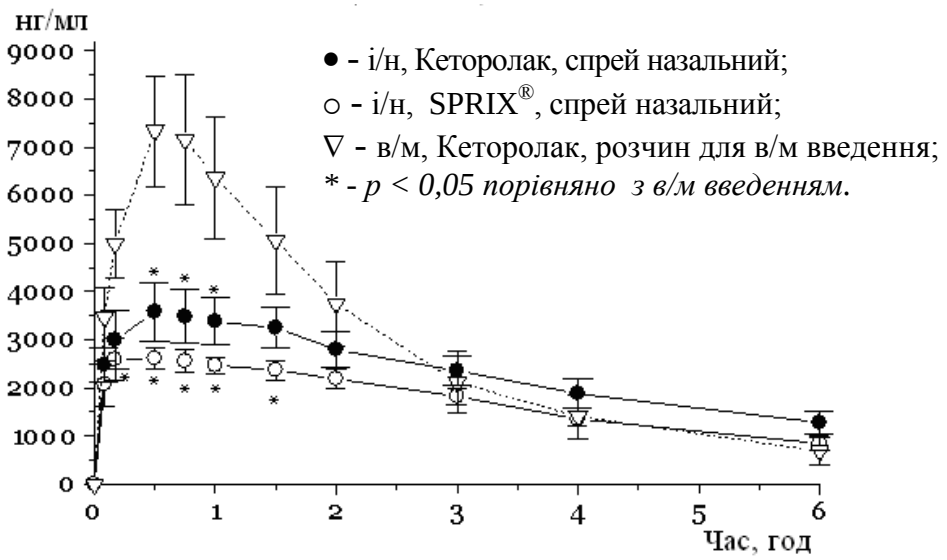

Рис. 4. Динаміка концентрації кеторолаку в плазмі крові кролів після однократного і/н та в/м введення в дозі 2 мг/кг.

При і/н введенні розробленого препарату та препарату SPRIX® так само, як і при в/м введенні розчину для ін'єкцій T_{max} кеторолаку дорівнював 0,5 год (табл. 5). При цьому у разі розробленого препарату C_{max} кеторолаку (3576,7 нг/мл) була приблизно у 2 рази менша за C_{max} кеторолаку при в/м введенні розчину (7337,5 нг/мл), але на 27 % перевищувала C_{max} при і/н введенні препарату SPRIX® (2611,2 нг/мл). Швидкість всмоктування кеторолаку ($C_{max}/AUC_{0\to t}$) при і/н введенні розробленого препарату та препарату SPRIX® поступалася такій при в/м введенні розчину для ін'єкцій (табл. 5), що свідчить про більш повільну та тривалу абсорбцію речовини з носової порожнини. Такий характер всмоктування забезпечує у 2,06 рази тривалішу циркуляцію кеторолаку у кровообігу при і/н введенні порівняно з в/м ін'єкцією. Кеторолак не депонувався тканинами, про що свідчить невеликий уявний об'єм розподілу (V_z) препарату за обох шляхів введення.

При і/н введенні вміст кеторолаку в плазмі крові зменшувався поступово, але з майже однаковою швидкістю, що відповідає однокамерній моделі фармакокінетики, на відміну від його екскреції при в/м введенні, що відповідало двокамерній моделі фармакокінетики.

При і/н введенні кеторолак елімінував з системного кровообігу повільніше, ніж при в/м ін'єкції: константа елімінації (K_{el}) і $T_{1/2}$ при і/н введенні розробленого препарату склали, відповідно, 0,198 год$^{-1}$ та 3,50 год, що було близько до показників препарату SPRIX®, що становили 0,241 год$^{-1}$ та 2,87 год відповідно. При в/м введенні кеторолаку K_{el} зростала до 0,374 год$^{-1}$, а $T_{1/2}$ скорочувався до 1,86 год (табл. 5).

Таблиця 5

Основні параметри фармакокінетики кеторолаку при однократному і/н і в/м введенні кролям в дозі 2 мг/кг

Параметри фармакокінетики	Величини параметрів фармакокінетики при різних шляхах введення препаратів:		
	Кеторолак спрей назальний, і/н (n = 12)	SPRIX® спрей назальний, і/н (n = 6)	Кеторолак розчин, в/м (n = 6)
C_{max}, нг/мл	3576,7	2611,2	7337,5
T_{max}, год	0,5	0,5	0,5
CL_T, мл/год	96,89	142,14	101,33
K_{el}, год$^{-1}$	0,198	0,241	0,374
$T_{1/2}$, год	3,50	2,87	1,86
MRT, год	5,16	4,35	2,50
V_z, мл/кг	489,8	587,6	271,4
$AUC_{0\to t}$, нг×год/мл	14182,97	10562,53	17902,95
$C_{max}/AUC_{0\to t}$, год$^{-1}$	0,252	0,247	0,410
$C_{max\ (і/н)}/C_{max\ (в/м)}$, %	48,8	35,6	100,0
f, %	79,2	59,0	100,0

За результатами фармакокінетичних досліджень зроблено припущення, що більш повільне всмоктування та триваліша елімінація при і/н введенні кеторолаку складають передумови до пролонгації анальгетичної дії, а відсутність пікових концентрацій в плазмі крові - для зменшення побічних реакцій цього НПЗЗ щодо ШКТ.

Співвідношення C_{max} при і/н і в/м введенні було вище для розробленого препарату (48,8 %), ніж для препарату SPRIX® (35,6 %). Розроблений препарат при і/н введенні характеризується також у 1,3 рази більш високою відносною біодоступністю кеторолаку (79,2 %), ніж препарат SPRIX® (59,0 %). Більш висока біодоступність кеторолаку при і/н введенні препарату Кеторолак спрей назальний ніж для препарату порівняння SPRIX® спрей назальний, напевно, пов'язана з добрими мукоадгезівними властивостями та здібністю до розтікання препарату по всієї поверхні слизової оболонки носової порожнини, що обумовлено наявністю у його складі поверхнево-активної речовини (полоксамеру). Всмоктування кеторолаку з більшої поверхні слизової оболонки має сприяти його більшій біодоступності.

Метою другого етапу було порівняльне дослідження фармакологічної актив-

ності кеторолаку при і/н та в/м введенні, що проведене з урахуванням спектру його фармакологічних властивостей як НПЗЗ (Buckley M., Brogden R., 1990).

При профілактичному і/н та в/м введенні щурам з оцтовокислими «корчами» кеторолак виявляв чіткий анальгетичний ефект (АЕ), дозозалежно та достовірно скорочуючи число «корчів» порівняно із нелікованим контролем ($p < 0,05$). Анальгетичні ефекти кеторолаку при і/н введенні в дозах 1 мг/кг, 2 мг/кг та 10 мг/кг склали відповідно 10,9 %, 28,5 % і 64,6 %, дещо поступаючись ефектам кеторолаку при в/м введенні у тих самих дозах, що склали 20,7 %, 44,9 % і 84,0 %. Різниця між величинами АЕ кеторолаку при і/н та в/м введенні зменшувалась зі зростанням дози. $ЕД_{50}$ кеторолаку при і/н та в/м введенні, достовірно не відрізнялись, склавши 6,9 мг/кг та 4,4 мг/кг відповідно.

При гострому карагеніновому запаленні стопи щурів, що супроводжувалось гіпералгезією, кеторолак при профілактичному і/н та в/м введенні виявляв виразний дозозалежний анальгетичний ефект (АЕ) і протизапальний ефект (ПЕ) (табл. 6).

Таблиця 6

Анальгетичні та протизапальні ефекти кеторолаку при і/н та в/м введенні щурам з карагеніновим набряком стопи (n = 8)

Групи	Доза, мг/кг	АЕ (%) та ПЕ (%) через … год після індукції запалення							Сумарні АЕ та ПЕ, (%×год)	
		0,25	0,5		1,0		3,0		$АЕ_{\Sigma}$	$ПЕ_{\Sigma}$
		ПЕ	АЕ	ПЕ	АЕ	ПЕ	АЕ	ПЕ		
Кеторолак і/н	1	26,8	22,9	23,4	26,0	30,0	16,4	27,4	60,4	80,4
	5	39,2	27,2	32,5	36,8	32,2	27,4	46,0	87,0	108,2
	10	47,4	49,4	41,3	53,1	49,9	33,0	49,2	124,1	138,9
Кеторолак в/м	1	19,1	28,7	27,0	34,2	42,6	20,9	37,7	78,0	105,9
	5	33,0	44,6	36,1	45,8	42,3	25,1	45,6	104,7	120,3
	10	31,1	64,8	56,0	73,0	53,8	30,0	49,2	153,7	145,2

АЕ кеторолаку за обох шляхів введення мав подібну динаміку; АЕ чітко проявлявся вже через 0,5 год після індукції запалення, досягав максимуму через 1 год і далі знижувався. У діапазоні досліджених доз кеторолаку за обох шляхів введення виявлена також чітка дозозалежність його сумарних анальгетичних ефектів ($АЕ_{\Sigma}$) та сумарних протизапальних ефектів ($ПЕ_{\Sigma}$). $ЕД_{50}$ кеторолаку при і/н та в/м введенні достовірно не відрізнялись, склавши 9,1 та 5,1 мг/кг відповідно. ПЕ кеторолаку при і/н та в/м введенні мав деякі розбіжності у виразності впродовж 1 год, проте далі з 1 по 3 год характеризувався стабільністю. У цей період виразність ефекту кеторолаку в дозах 5 мг/кг та 10 мг/кг не залежала від шляху введення, $ЕД_{50}$ кеторолаку при і/н та в/м введенні не мали достовірних розрізнень, склавши 11,1 мг/кг та 8,4 мг/кг відповідно.

При експериментальному болю із центральним компонентом – тестах термобольового («tail-flick») та електробольового подразнення – кеторолак при і/н та в/м, введенні викликав дозозалежний АЕ, який розраховували за скороченням ПБЧ під впливом препарату порівняно з нелікованим контролем (табл. 7).

В обох тестах анальгетичні ефекти (АЕ) кеторолаку при і/н і в/м введенні ха-

рактеризувались подібною динамікою (табл. 7), але і/н інстиляція чинила дещо менший АЕ порівняно із в/м ін'єкцією. Аналіз дозозалежності сумарного АЕ ($АЕ_{\Sigma}$) свідчить про його чітке зростання з підвищенням дози. В тесті «tail-flick» $АЕ_{\Sigma}$ при і/н введенні кеторолаку у дозах 5 мг/кг та 25 мг/кг склали відповідно 76,3 % и 77,5 % від $АЕ_{\Sigma}$ кеторолаку при в/м ін'єкції в тих самих дозах. При електробольовому подразненні $АЕ_{\Sigma}$ кеторолаку при і/н введенні становив 62,0 % и 76,0 % від $АЕ_{\Sigma}$ кеторолаку при в/м введенні у тих самих дозах.

Таблиця 7

Анальгетичний ефект (АЕ) кеторолаку при і/н та в/м введенні при термо- та електробольовому подразненні щурів (n = 8)

Групи	Доза мг/кг	АЕ (%) через . . . год після введення						$АЕ_{\Sigma}$ (%×год)
		0,25	0,5	1,0	2,0	4,0	6,0	
Термобольове подразнення (тест «tail-flick»)								
Кеторолак, і/н	5	14,9	14,7	22,0	15,7	16,5	9,2	91,5
	25	39,9	38,9	55,6	48,1	46,4	25,7	256,9
Кеторолак, в/м	5	16,3	18,0	23,4	25,0	20,5	13,1	120,0
	25	48,1	56,4	67,8	67,1	58,9	29,1	331,6
Електробольове подразнення								
Кеторолак, і/н	5	14,6	14,9	14,7	5,3	9,9	6,5	54,5
	25	37,1	38,3	44,9	39,6	38,1	18,9	211,8
Кеторолак, в/м	5	18,5	19,5	21,2	16,6	13,3	8,3	87,7
	25	42,4	44,8	52,6	56,8	52,5	21,3	278,4

Аналіз співвідношення фармакологічної активності кеторолаку на підставі E_{total} при і/н та в/м введенні (табл. 8) свідчить про відповідність співвідношення їх ефектів (79,4÷89,1 %) відносній біодоступності кеторолаку при і/н інстиляції кролям порівняно з в/м введенням (f′=79,2).

Таблиця 8

Співвідношення фармакологічної активності кеторолаку при і/н та в/м введенні

Тест	E_{total} кеторолаку:		Відносна активність кеторолаку при і/н введенні, %
	і/н введення	в/м введення	
Оцтовокислі «корчі»	391,7	548,4	71,4
Карагенінова гіперальгезія (тест Рендал-Селіто)	822,6	1011,4	81,3
Карагенінове запалення стопи щурів (пригнічення набряку)	995,0	1116,2	89,1
Термобольове подразнення (тест «tail-flick»)	3484,0	4516,0	77,2
Електробольове подразнення	2663,0	3661,0	72,7

За результатами досліджень зроблено припущення, що реалізація фармаколо-

гічної дії кеторолаку при і/н введенні, на відміну від налоксону, практично не залежить від абсорбції препарату ольфакторним епітелієм носової порожнини, що відповідає даним про лінійну залежність ефектів кеторолаку від концентрації в крові (V. Granados-Soto et al., 1995).

Третій етап дослідження полягав у вивченні безпеки кеторолаку при і/н введенні. Доведено, що у мурчаків кеторолак при однократному і/н введенні в дозах 89,3 мг/кг та 157,5 мг/кг не викликає загибелі і не впливає на загальний стан, поведінку і динаміку маси тіла тварин. При однократному і/н введенні щурам у дозах 236,3 мг/кг, 315,1 мг/кг та 472,5 мг/кг кеторолак викликав характерні для НПЗЗ клінічні прояви інтоксикації (гіподинамія, слабка реакція на зовнішні подразники, пілоерекція, діарея, кров'янисті виділення з носу) та дозозалежну загибель. Середня летальна доза ($ЛД_{50}$) кеторолаку при і/н введенні щурам становила 315 мг/кг, співставлення якої з відомими з літератури $ЛД_{50}$ кеторолаку у щурів – 112 мг/кг (перорально) та 158 мг/кг (внутрішньоочеревинно), а також власними даними щодо $ЛД_{50}$ кеторолаку у щурів – 134,4 мг/кг (в/м), свідчить, що і/н шлях введення поліпшує переносимість кеторолаку. При повторному 14-добовому і/н введенні у дозі 8 мг/кг (0,05 мл/кг/добу) кеторолак не чинив місцевоподразнювальної дії та не призводив до суттєвих порушень морфоструктури слизової оболонки носової порожнини щурів. На фоні 14-денного і/н введення кеторолаку в дозі 16 мг/кг (0,1 мл/кг/добу) морфоструктура слизової оболонки зазнавала дещо виразніших змін, їх бальна оцінка свідчила про незначну місцевоподразнювальну дію.

Загалом, встановлені співставні показники фармакологічної активності кеторолаку при і/н та в/м введенні щурам, що також є відображенням доброї біодоступності кеторолаку при і/н введенні препарату. У комплексі з дослідженнями безпеки кеторолаку при і/н введенні, під час яких показана незначна місцевоподразнювальна дія, отримані результати доводять доцільність створення та впровадження розробленого препарату Кеторолак спрей назальний у медичну практику, як альтернативи препаратам для ін'єкційного введення, зокрема, при наданні невідкладної допомоги.

ВИСНОВКИ

Підвищення ефективності та безпеки невідкладної терапії гострих станів є однією з актуальних задач сучасної фармакології. Зокрема, удосконалення термінової допомоги при опіоїдних передозуваннях потребує поширення терапії антагоністом опіоїдних рецепторів налоксоном, який наразі застосовується лише в 50 % випадків передозувань опіоїдними наркотиками. Інший вид гострих станів, а саме гострий больовий синдром, що потребує ненаркотичного знеболення, спостерігається у 35 % хворих після хірургічних втручань і у 50 % онкологічних хворих. Зазначене зумовлює актуальність розробки нових препаратів налоксону та НПЗЗ кеторолаку для і/н введення системної дії для невідкладної терапії зазначених гострих станів.

У дисертації наведені результати комплексного експериментального дослідження, що сприяють вирішенню актуальної наукової задачі сучасної фармацевтичної науки та полягають в фармакологічному обґрунтуванні доцільності створення нових препаратів налоксону і кеторолаку в формі назальних спреїв для лікування гострих опіоїдних передозувань та виразного больового синдрому відповідно, а та-

кож поглиблюють і розширюють науковий підхід до фармацевтичної розробки лікарських засобів для і/н введення різної спрямованості дії, що необхідні для надання невідкладної допомоги в критичних ситуаціях.

1. Результати фармакокінетичних досліджень свідчать, що при і/н введенні кролям налоксон характеризується у 1,3-1,7 разів більш швидким, ніж при в/м введенні у відповідній дозі, всмоктуванням у системний кровообіг із подальшою швидкою елімінацією. Абсолютна біодоступність налоксону при і/н введенні кролям складає близько 30 % і пропорційно зростає в діапазоні доз 0,6÷1,2 мг/кг. За результатами досліджень обрано концентрацію налоксону в препараті 1,2 % та його дозу для і/н введення 1,2 мг.

2. При і/н інстиляції щурам налоксон виявляє характерну достовірну ($p < 0,05$) протиопіоїдну активність щодо токсичної депримуючої та специфічної анальгетичної дії морфіну. Відносна активність налоксону при і/н введенні від відповідних ефектів при в/м введенні становить: при морфіновій седації – 78,8 %, при термобольовому подразненні (тест «tail-flick») – 77,2 %, при термобольовому подразненні (тест «hot plate») – 103,3 %, при електробольовому подразненні – 89,1 %.

3. Налоксон при однократному і/н введенні щурам у максимально припустимих за об’ємом дозах (до 38 мг/кг за налоксоном) не викликає суттєвих змін у стані й поведінці тварин та не призводить до їх загибелі. При повторних 7-денних і/н інстиляціях щурам налоксон не виявляє місцевоподразнювальної дії, про що свідчить бальна оцінка порушень стану морфоструктури слизової оболонки носової порожнини тварин, яка не перевищує 0,5 балів за 5-бальною шкалою.

4. При і/н введенні кролям кеторолак характеризується у 1,6 разів більш повільнішою та пролонгованою абсорбцією, а також у 2,1 рази тривалішим часом циркуляції в крові порівняно із в/м введенням у відповідній дозі. Розроблений препарат Кеторолак назальний спрей забезпечує у 1,3 рази вищу біодоступність кеторолаку ніж препарат порівняння SPRIX® спрей назальний.

5. При і/н інстиляції щурам кеторолак виявляє характерні достовірні ($p < 0,05$) АЕ і ПЕ в умовах експериментального болю різної етіології та запалення. Відносна активність кеторолаку при і/н введенні від відповідних ефектів при в/м ін’єкції становить: при оцтовокислих «корчах» – 71,4 %, при карагеніновому запаленні стопи – 81,3 % (тест Рендал-Селіто) і 89,1 % (пригнічення набряку), при термобольовому подразненні (тест «tail-flick») – 77,2 %, при електробольовому подразненні – 72,7 %.

6. Кеторолак при і/н введенні щурам характеризується кращою переносимістю, ніж при пероральному та ін’єкційному введенні. Середня летальна доза кеторолаку у щурів при однократному і/н введенні складає 315 мг/кг. При повторних 14-денних і/н інстиляціях щурам кеторолак виявляє незначну місцевоподразнювальну дію, про що свідчить бальна оцінка порушень стану морфоструктури слизової оболонки носової порожнини тварин, яка не перевищує 1,3 бали за 5-бальною шкалою.

7. Встановлені величини відносної біодоступності налоксону та кеторолаку при і/н введенні, співставність виразності фармакологічної активності при і/н та в/м введенні кожної з цих діючих речовин та показники їх безпеки при і/н введенні експериментально доводять доцільність створення нових препаратів налоксону та кето-

ролаку системної дії у формі назальних спреїв, що можуть служити альтернативою препаратам для ін'єкційного введення, зокрема, при наданні невідкладної допомоги.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Фармакокинетическое обоснование концентрации и дозы налоксона гидрохлорида при фармацевтической разработке препарата Налоксон спрей назальный / О. В. Тимченко, Е. П. Безуглая, И. Н. Орлова, Э. А. Бариев // Фармаком. – 2013. – № 2. – С. 30-37. (*Особистий внесок здобувача – участь у проведенні досліджень, аналізуванні та узагальненні їх результатів, підготовка публікації до друку*).

2. Порівняльне експериментальне фармакологічне вивчення налоксону при інтраназальному та ін'єкційному введенні щурам / О. В. Тимченко, Л. О. Чайка, М. О. Ляпунов, Т. В. Андріанова // Вісник фармації. – 2013. – № 3. – С. 75-78. (*Особистий внесок здобувача – участь у проведенні досліджень, аналізуванні та узагальненні їх результатів, підготовка публікації до друку*).

3. Порівняльне експериментальне фармакологічне дослідження кеторолаку при інтраназальному та внутрішньом'язовому введенні щурам / О. В. Тимченко, Л. О. Чайка, М. О. Ляпунов, В. В. Лібіна, Т. В. Андріанова // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – № 3. – С. 67-72. (*Особистий внесок здобувача – участь у проведенні досліджень, аналізуванні та узагальненні їх результатів, підготовка публікації до друку*).

4. Comparative pharmacokinetic investigation of ketorolac after intranasal and intramuscular administration in rabbits / O. P. Bezyglaya, V. V. Libina, M. O. Lyapunov, I. M. Orlova, O. V. Tymchenko // Клінічна фармація. – 2013. – № 4. – С. 63-66. (*Особистий внесок здобувача – участь у проведенні досліджень, аналізуванні та узагальненні їх результатів, підготовка публікації до друку*).

5. Нікітіна Н.С. Експериментальне дослідження токсичності налоксону та кеторолаку при одноразовій інтраназальній інстиляції щурам та мурчакам / Н. С. Нікітіна, Т. Л. Леонтьєва, О. В. Тимченко // Фармаком. – 2014. – № 1. – С. 77-81. (*Особистий внесок здобувача – участь у проведенні досліджень, аналізуванні та узагальненні їх результатів, підготовка публікації до друку*).

6. Сравнительное исследование биодоступности и других параметров фармакокинетики кеторолака у кроликов при введении в форме назальных спреев и раствора для инъекций / В. В. Либина, Е. П. Безуглая, О. В. Тимченко, Н. А. Ляпунов, И. Н. Орлова, И. В. Кудрис // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия «Медицина и фармация». – 2014. – № 24 (195). – Вып. 28. – С. 246-253. (*Особистий внесок здобувача – участь у проведенні досліджень, аналізуванні та узагальненні їх результатів, підготовка публікації до друку*).

7. Разработка назального спрея налоксона для интенсивной терапии передозировки опиатов / О. В. Тимченко, Н. А. Ляпунов, Т. В. Андрианова, И. В. Кудрис // Матеріали IV Британсько-Українського симпозіуму з міжнародною участю «Анестезіологія та інтенсивна терапія: уроки минулого та погляд у майбутнє», м. Київ, 25-26 жовтня 2012 р. – Київ, 2012. – С. 35.

8. Порівняльне експериментальне дослідження фармакокінетики налоксону при інтраназальному та парентеральному введенні кроликам / О. В. Тимченко, М.

О. Ляпунов, Т. В. Андріанова, В. В. Лібіна, І. М. Орлова, І. В. Кудріс // Матеріали Національного конгресу «Клінічна фармація: 20 років в Україні», м. Харків, 21-22 березня 2013 р. – Харків: НФаУ, 2013. – С. 223.
9. Фармакологічне обґрунтування розробки назального спрею кеторолаку / М. О. Ляпунов, О. П. Безугла, О. В. Тимченко, Т. В. Андріанова, І. В. Кудріс, І. М. Орлова // Матеріали Національного конгресу «Клінічна фармація: 20 років в Україні», м. Харків, 21-22 березня 2013 р. – Харків: НФаУ, 2013. – С. 147.
10. Нікітіна Н.С. Експериментальне дослідження безпечності налоксону та кеторолаку при однократному інтраназальному введенні лабораторним тваринам / Н. С. Нікітіна, Т. Л. Леонтьєва, О. В. Тимченко // Матеріали III науково-практичної конференції «Безпека та нормативно-правове супроводження лікарських засобів: від розробки до медичного застосування»; м. Київ, 23-24 жовтня 2013 р. – Київ, 2013. – С. 105-106.
11. Тимченко О. В. Назальний спрей налоксону як засіб підвищення ефективності і безпеки лікування опіатних передозувань / О. В. Тимченко, М. О. Ляпунов // Матеріали VI Конгресу Південно-східно Європейського медичного форуму і XIV З'їзду Всеукраїнського лікарського товариства, м. Одеса, 9-12 вересня 2015 р. – Одеса, 2015. – С. 381-382.
12. Тимченко О.В. Розробка назального спрею кеторолаку як засобу підвищення ефективності і безпеки ненаркотичного знеболення / О. В. Тимченко, М. О. Ляпунов // Матеріали II Українського симпозіуму з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної ортопедії та травматології», м. Дніпропетровськ, 17-18 вересня 2015 р. – Дніпропетровськ, 2015. – С. 123.

АНОТАЦІЯ

Тимченко О.В. Фармакологічне обґрунтування доцільності створення нових препаратів налоксону та кеторолаку у формі назальних спреїв. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2015.

Робота присвячена комплексному дослідженню з обґрунтування доцільності створення нових препаратів налоксону та кеторолаку у формі назальних спреїв.

Фармакокінетика налоксону при і/н введенні кролям характеризується швидкими абсорбцією та елімінацією. Абсолютна біодоступність налоксону при і/н введенні становить близько 30 % та пропорційно зростає в діапазоні доз 0,6÷1,2 мг/кг. За результатами досліджень обрано концентрацію налоксону у препараті 1,2 % та його дозу для і/н введення 1,2 мг.

Кеторолак при і/н введенні кролям абсорбується більш повільно та пролонговано порівняно з в/м введенням, тому більш тривало циркулює в крові. Розроблений препарат Кеторолак спрей назальний забезпечує більшу відносну біодоступність кеторолаку (79,2 %), ніж препарат SPRIX® спрей назальний (59,0 %).

При і/н інстиляції щурам налоксон виявляє характерний достовірний антагоністичний ефект щодо депримуючої та анальгетичної дії морфіну. Виразність фармакологічних ефектів налоксону при і/н введенні щурам становить 78,8-103,3 % відно-

сно ефектів налоксону при в/м введенні.

В умовах експериментального болю та запалення кеторолак при і/н інстиляції щурам виявляє характерні достовірні АЕ і ПЕ, виразність яких становить 79,4-89,1 % відносно ефектів кеторолаку при в/м ін'єкції.

Дослідженнями безпеки доведено, що при і/н введенні лабораторним тваринам налоксон та кеторолак характеризуються доброю переносимістю та не чинять значної місцевоподразнювальної дії.

Проведені дослідженя експериментально обґрунтовують доцільність створення нових препаратів налоксону та кеторолаку у формі назальних спреїв.

Ключові слова: налоксон, кеторолак, назальний спрей, біодоступність, фармакокінетика, фармакологічна активність, безпека.

АННОТАЦИЯ

Тимченко О.В. Фармакологическое обоснование целесообразности создания новых препаратов налоксона и кеторолака в форме назальных спреев. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2015.

Работа посвящена комплексному фармакокинетическому, фармакологическому и токсикологическому исследованию по обоснованию целесообразности создания препаратов налоксона и кеторолака в форме назальных спреев для повышения эффективности и безопасности неотложной помощи при опиоидной передозировке и болевом синдроме соответственно. Результаты исследований углубляют и расширяют научный подход к фармацевтической разработке лекарственных препаратов для интраназального введения разной направленности действия, которые необходимы для оказания неотложной помощи в критических ситуациях.

Фармакокинетика налоксона при и/н введении кролям характеризуется быстрым всасыванием в кровь с дальнейшей быстрой элиминацией. Скорость системной абсорбции налоксона при и/н введении в 1,3-1,7 раза превышала таковую при в/м инъекции в соответствующей дозе. При и/н введении налоксона в диапазоне до 1,2 мг/кг C_{max} и AUC возрастали прямо пропорционально дозе. Период T_{max} для и/н введения, как и для в/м инъекции, составил 5-10 мин. Абсолютная биодоступность препарата при и/н введении кролям составила около 30 % и пропорционально возрстает в диапазоне доз 0,6÷1,2 мг/кг. По результатам исследований выбрана концентрация налоксона в препарате 1,2 % и его доза для и/н введення 1,2 мг.

При и/н введении кролям кеторолак характеризуется в 1,6 раз более медленной и прологированной абсорбцией, а также в 2,1 раза более продолжительным временем циркуляции в крови сравнительно с в/м введением в соответствующей дозе. Максимальная концентрация кеторолака при и/н введении разработанного препарата превосходила C_{max}, достигавшуюся при введении препарата SPRIX® спрей назальный, на 27 %. Период T_{max} при и/н введении разработанного препарата и препарата SPRIX®, как и в/м введении раствора кеторолака для инъекций, составил 0,5 ч. При и/н введении разработанного препарата биодоступность кеторолака составила

79,2 % что в 1,3 раза превышает таковую при и/н введении препарата SPRIX® (59,0 %), что, видимо, обусловлено наличием в составе разработанного препарата полоксамера – биоадгезивого поверхностно-активного вещества.

При и/н инстиляции крысам налоксон оказывает характерную достоверную ($p < 0,05$) антиопиоидную активность, уменьшая выраженность токсического депримирующего эффекта морфина в тесте «открытое поле» и терапевтического анальгетического эффекта морфина при экспериментальной боли с центральным компонентом – термоболевого (тесты «tail-flick» и «hot plate») и электроболевого раздражения крыс. Выраженность обобщенных фармакологических эффектов налоксона при и/н введении крысам относительно его эффектов при в/м введении составила: при морфиновой седации – 78,8 %; при термоболевом раздражении в тесте «tail-flick» – 98,0 %, в тесте «hot plate» – 103,3 %; при электроболевом раздражении – 89,1 %. Анализ соотношения фармакологической активности налоксона при и/н и в/м введении свидетельствует о значительно большем их подобии, чем относительная биодоступность налоксона при интраназальном введении (31,9÷33,3 %), что может быть обусловлено усилением фармакологической активности препарата вследствие внесосудистого поступления к мозговым оболочкам в результате абсорбции ольфакторным эпителием носовой полости.

При и/н инстиляции кеторолака крысам в условиях экспериментальной боли различной этиологии и воспаления, патогенез которых включал как активацию биосинтеза простагландинов (уксуснокислые «корчи», каррагениновое воспаление и гиперальгезия стопы), так и при боли с центральным компонентом – термоболевом (тест «tail-flick») и электроболевом раздражении, препарат оказывает характерные достоверные ($p < 0,05$) АЭ и ПЭ. Выраженность обобщенных фармакологических эффектов кеторолака при и/н введении относительно его эффектов при в/м введении составила: при уксуснокислых «корчах» – 71,4 %; при каррагениновой гиперальгезии (тест Рендалл-Селитто) – 81,3 %, при угнетении каррагенинового отека – 89,1 %; при термоболевом раздражении в тесте «tail-flick» – 77,2 %; при электроболевом раздражении – 72,7 %. Сопоставимость относительной активности кеторолака и его относительной биодоступности при и/н введении (79,2 %) свидетельствует, что реализация фармакологической активности препарата практически не зависит от абсорбции ольфакторным эпителием носовой полости животных.

Исследованиями безопасности показано, что при однократном и/н введении лабораторным животным налоксон и кеторолак характеризуются хорошей переносимостью и не оказывают значимого местнораздражающего действия. Так, при однократном и/н введении крысам в максимально возможных по объему дозах (до 38 мг/кг в расчете по налоксону) налоксон не вызывает значительных изменений их состояния и не приводит к гибели. При повторных 7-дневных и/н инстилляциях крысам в дозах 4 мг/кг и 8 мг/кг налоксон не вызывает местнораздражающего действия, о чем свидетельствуют незначительные отклонения в состоянии морфоструктуры слизистой оболочки носовой полости, бальная оценка которых не превышает 0,5 баллов по 5-бальной шкале.

При однократном и/н введении крысам $ЛД_{50}$ кеторолака составила 315 мг/кг, что свидетельствует о его лучшей переносимости, чем при пероральном и инъекци-

онном введении. При повторных 14-дневных и/н инстилляциях крысам в дозах 8 мг/кг и 16 мг/кг (в расчете по кеторолаку) кеторолак оказывает незначительное местнораздражающее действие, о чем свидетельствуют слабые нарушения морфоструктуры слизистой оболочки носовой полости, бальная оценка которых не превышает 1,3 балла по 5-бальной шкале.

Проведенный комплекс исследований экспериментально доказал целесообразность создания новых препаратов налоксона и кеторолака в форме назальных спреев для повышения эффективности и безопасности неотложной помощи при опиоидной передозировке и болевом синдроме соответственно.

Ключевые слова: налоксон, кеторолак, назальный спрей, биодоступность, фармакокинетика, фармакологическая активность, безопасность.

SUMMARY

Tymchenko O.V. Pharmacological rationale of advisability of creation of new medicines of naloxone and ketorolac as nasal sprays. – Manuscript.

The thesis for obtaining the scientific degree of a candidate of pharmaceutical sciences in speciality 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2015.

Thesis is devoted to complex research for pharmacological rationale of advisability of creation new naloxon and ketorolac medicines in dosage form as nasal sprays.

Naloxone is being administered intranasally to rabbits rapidly absorbed and quickly eliminated. The absolute intranasal bioavailability of naloxone is approximately 30 % and proportionally increases in the dose range 0,6÷1,2 mg/kg. According to the results optimal naloxone content in nasal spray was defined as 1,2 % and its intranasal dose as 1,2 mg.

Intranasal ketorolac administration provides longer and more continuous absorption as well as longer mean residual time comparatively with its intramuscular injection. Developed ketorolac nasal spray provides higher relative bioavailability (79,2 %) comparatively with nasal spray SPRIX® (59,0 %).

Intranasal administration of naloxon shown typical antagonism against sedative and analgesical effects of morphine. Significance of pharmacological effects of intranasal administration of naloxone to rats was equal to 78,8-103,3 % comparatively with effects of its intramuscular injection. Under condition of experimental pain and inflammation the intranasal instillation of ketorolac to rats had typical analgesical and antiinflammatory effects. Significance of pharmacological effects of intranasal administration of ketorolac was equal to 79,4-89,1 % comparatively with effects of its intramuscular injection.

Safety research indicated that intranasal naloxone and ketorolac administration to laboratory animals were good tolerated and didn’t case significant local irritation.

Complex research has justified the creation of such a new dosage forms of naloxon and ketorolac as nasal sprays.

Key words: naloxone, ketorolac, nasal spray, bioavailabilty, pharmacokinetics, pharmacological activity, safety.

Формат 60х84/16. Ум. друк. арк. 0,9. Тир. 100 прим. Зам. 054-16
Підписано до друку 05.02.2016 р. Папір офсетний.

Надруковано з макету замовника у ФОП Бровін О.В.
61022, м . Харків, вул. Трінклера, 2, корп. 1, к. 19. Т. (057) 758-01-08, (066) 822-71-30
Свідоцтво про внесення суб'єкта до Державного реєстру
видавців та виготовників видавничої продукції серія ДК 3587 від 23.09.09 р.