

ПРОТИЗАПАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ КОМБІНАЦІЇ ДОКСИЦИКЛІНУ З ГЛЮКОЗАМІНОМ ГІДРОХЛОРИДОМ

Джехад А.С. Ібрахім, Є.Ф.Грінцов, І.А.Зупанець

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: доксициклін; глюкозаміну гідрохлорид; антимікробні препарати; протизапальний ефект

Представлені результати вивчення впливу нового комбінованого антимікробного препарату "Доксициклін із глюкозаміном" на ексудативну, альтеративну і проліферативну стадії запалення у порівнянні з індивідуальними субстанціями доксицикліном і глюкозаміном гідрохлоридом і референсним препаратом диклофенаком калію "Вольтарен-рапід". Встановлено, що препарат "Доксициклін із глюкозаміном" у порівнянні з окремими компонентами комбінації, а також з референс-препаратом "Вольтарен-рапід" виявляє більш високі антиексудативні властивості, ніж його компоненти у відповідних дозах, що свідчить про їхню синергічну взаємодію. Значного впливу на запальний процес із перевагою альтеративних змін препарат "Доксициклін із глюкозаміном" не виявляє. Новий препарат "Доксициклін із глюкозаміном" в умовно терапевтичній дозі 12 мг/кг виявляє помірний антипроліферативний ефект, який можна порівняти із впливом глюкозаміну гідрохлориду у відповідній дозі, що вказує на позитивний вплив цього компонента при їхній комбінації. Отримані результати підтверджують доцільність створення вказаного препарату і перспективність його застосування в умовах клініки для лікування захворювань бактеріальної природи, одним із патогенетичних механізмів яких є ексудативне запалення.

Проблема підвищення ефективності антибактеріальної терапії захворювань інфекційного генезу є дуже актуальною в сучасній медичній практиці [9, 11, 13, 15, 19-22]. Як один із методів вирішення цієї задачі може бути використана комбінація антибіотиків з речовинами, які потенціюють їхні позитивні властивості і зменшують негативні характеристики [2, 8, 12, 17]. В опублікованих нами раніше роботах висловлювалась думка про доцільність комбінації антибіотика тетрациклінового ряду доксицикліну (Д) із глюкозаміном гідрохлоридом (ГА), природним аміноцукром, який володіє цитопротекторними і протизапальними властивостями [5, 7]. Комбінування інгредієнтів привело до зниження токсичності доксицикліну і потенціювання його антимікробної дії [6]. Теоретичний і практичний інтерес представляє з'ясування протизапальних властивостей ком-

бінованого препарату "Доксициклін із глюкозаміном". Незважаючи на те, що запалення в організмі людини виконує захисно-приспосувальну роль, виражена активність цього процесу, у свою чергу, виявляє ушкоджуючу дію на макроорганізм [1, 14, 16, 23].

Вивчення впливу нового комбінованого антимікробного препарату "Доксициклін із глюкозаміном" на ексудативну, альтеративну і проліферативну стадії запалення і стало метою дійсного дослідження.

Матеріали та методи

Досліди проводили на білих безпородних щурах масою 180-200 г.

Для вивчення впливу агентів на ексудативне запалення була використана модель карагенінового набряку стопи у щурів. Набряк викликали субплантарним введенням 1% розчину карагеніну в кількості 0,1 мл [12]. Про-

розвиток набряку судили за збільшенням об'єму лапи, який вимірювали у динаміці через 1, 2, 3, 4 і 5 год за допомогою механічного онкометра за А.С.Захаревським [4]. Антиексудативну активність речовин виражали в % і визначали за здатністю зменшувати набряки в піддослідних тварин у порівнянні з контрольними. Розрахунок проводили за формулою:

$$A = (\Delta V_0 - \Delta V_k / \Delta V_r) \cdot 100\%,$$

де: А — протизапальна активність у відсотках; ΔV_0 та ΔV_k — різниця між набряклом і здоровою лапою в досліді та у контролі.

Вплив досліджуваних препаратів на альтеративне запалення вивчали на моделі хронічного асептичного запалення шкіри і підшкірної клітковини у щурів, викликаного підшкірним введенням 9% розчину оцтової кислоти з розрахунку 0,5 мл на тварину та одночасним внутрішньоочеревинним введенням 6% розчину декстрану у розрахунку 300 мг/кг. Останній застосовували з метою

Таблиця 1

**Динаміка антиексудативної активності нового комбінованого препарату
“Доксициклін із глюкозаміном” у порівнянні з його компонентами доксицикліном,
глюкозаміном і референс-препаратом “Вольтарен-рапід” (n=54)**

Препарат	Доза, мг/кг	Антиексудативна активність, %				
		1 г	2 г	3 г	4 г	5 г
Доксициклін	0,5	6,31±3,08	3,72±3,72	0	0	0,68±0,68
Доксициклін	1,0	15,19±5,90	11,13±5,53	17,68±8,19	7,42±5,27	7,50±7,50
Доксициклін	6,0	44,44±10,14	11,13±5,83	16,69±7,03	6,36±6,36	7,05±6,23
Доксициклін	50,0	18,12±4,41	36,08±6,60	37,60±7,55	36,85±6,48	34,83±7,76
Глюкозамін	6,0	39,82±11,02	33,14±10,75	24,50±8,90	6,74±6,74	8,18±7,36
Глюкозамін	50,0	13,64±7,25	31,30±5,44	30,90±5,48	31,73±6,87	36,95±4,32
Д+ГА	12,0	46,67±13,54	48,44±13,05	25,84±8,13	5,17±4,14	13,35±7,62
Д+ГА	100,0	32,70±4,92	21,25±2,86	36,10±3,38	32,59±2,67	29,55±1,94
“Вольтарен-рапід”	1,0	57,41±11,93	68,60±10,00	62,37±6,93	50,33±10,06	58,41±16,31

сенсibilізації організму тварин і посилення некротичної реакції [3]. Показниками активності вважали: відсоток зменшення площі виразок у порівнянні з контролем у динаміці, відсоток тварин з ранами, що зарубцювалися, і швидкість загоєння ран, які визначали за формулою:

$$V = (S_0 - S_t / S_0) \cdot 100,$$

де: S_0 — початкова максимальна площа рани (7-й день), мм^2 ;
 S_t — площа рани в день вимірювання t , мм^2 .

Вимірювання площі рани проводили в динаміці через день протягом 30 днів.

Антипроліферативну активність (здатність речовин зменшувати утворення грануляційно-фіброзної тканини) досліджуваних об'єктів вивчали на моделі ватної гранульоми у щурів. Стерильну ватну кульку масою 15 мг в асептичних умовах підшивали під шкіру спини наркотизованим щурам. Досліджувані агенти вводили протягом 7 днів перорально в умовно терапевтичних і еквівалентних їм дозах. Після закінчення експерименту гранульому, що утворилася, видаляли, зважували, поміщали в сушильну шафу, де висушували при $t=55^\circ\text{C}$ до постійної ваги. Як інтегральний показник використовували масу грануляційної тканини. Антипроліферативну активність виражали в % і

визначали за здатністю знижувати масу грануляційної тканини в дослідних групах тварин у порівнянні з контрольними [3].

Новий комбінований препарат “Доксициклін із глюкозаміном” вивчали в умовно терапевтичній дозі, яка відповідно до перерахування з використанням коефіцієнта Ю.П.Риболовлева [10] склала 12 мг/кг, а також у дозі 100 мг/кг з урахуванням раніше встановленої умовно терапевтичної дози самого ГА 50 мг/кг. Компонент Д вивчали в декількох дозах: умовно терапевтичній, яка відповідно до перерахування з використанням коефіцієнта Ю.П.Риболовлева склала 6 мг/кг, і в дозах майже в 5 і 10 разів менше — 1,0 і 0,5 мг/кг і майже в 10 разів більше — 50 мг/кг. Інший компонент нового препарату субстанцію ГА вивчали в дозі 6 мг/кг, еквівалентній вмісту в комбінованому препараті, і в умовно терапевтичній — 50 мг/кг, яка була встановлена попередніми дослідженнями [1, 3]. В якості референсного препарату використовували широко відомий представник групи нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) диклофенак калію “Вольтарен-рапід” у дозі $ED_{50}=1$ мг/кг.

Досліджувані об'єкти вводили протягом 30 днів внутрішньошлунково 1 раз на добу у пробі на моделях ексудативного та альте-

ративного запалення і протягом 7 діб при вивченні антипроліферативної активності.

Результати та їх обговорення

Результати вивчення антиексудативної активності нового комбінованого препарату “Доксициклін із глюкозаміном” у порівнянні з його компонентами Д та ГА і референс-препаратом “Вольтарен-рапід” представлені в табл. 1.

При аналізі результатів дослідження враховували дані літератури про те, що в патогенезі розвитку карагенінового набряку стопи щурів в перші 30-90 хв беруть участь гістамін і серотонін, в інтервалі між 1,5-2,5 годиною — кініни, а між 2,5-5 годиною — простагландини (ПГ) [14].

Результати вивчення впливу Д на ексудативну фазу запалення (табл. 1) показали, що в дозах 0,5 мг/кг і 1,0 мг/кг даний об'єкт антиексудативних властивостей не виявляє. У дозі 6 мг/кг, еквівалентній його вмісту в новому комбінованому препараті, Д інгібує такі медіатори запалення, як гістамін і серотонін. Він помірковано активний в першу годину розвитку карагенінового запалення — його ефект складає 44,44%. У дозі 50 мг/кг, еквівалентній умовно терапевтичній дозі ГА, Д виявляє протилежний ефект — він не активний в 1-шу годину (18,12%)

Таблиця 2

Динаміка впливу на альтеративне запалення нового комбінованого препарату "Доксициклін із глюкозаміном" у порівнянні з його компонентами доксицикліном, глюкозаміном і референс-препаратом "Вольтарен-рапід" на моделі хронічного асептичного запалення шкіри і підшкірної клітковини у щурів (n=40)

День дослідду	Контроль		Доксициклін, 6 мг/кг		Глюкозамін, 6 мг/кг		Доксициклін із глюкозаміном, 12 мг/кг		Вольтарен-рапід, 1 мг/кг	
	S, см ²	V	S, см ²	V	S, см ²	V	S, см ²	V	S, см ²	V
10-й	1,74±0,17	-	2,60±0,37	-	2,30±0,32	-	2,11±0,21	-	2,52±0,54	-
16-й	0,88±0,15	51,40±7,58	1,24±0,24	48,67±8,69	1,10±0,17	48,34±6,77	1,05±0,18	54,53±7,35	1,19±0,18	52,40±6,92
20-й	0,28±0,08	84,50±4,18	0,38±0,11	84,01±4,17	0,43±0,07	78,07±4,10	0,52±0,18	76,89±6,28	0,73±0,16	71,10±7,25
23-й	0,10±0,023	94,49±1,26	0,24±0,11	92,48±2,74	0,27±0,08	85,00±4,18	0,40±0,16	82,35±5,34	0,27±0,12	89,43±5,96
30-й	0,07±0,06	95,50±3,66	0,09±0,08	97,94±1,67	0,12±0,05	93,57±3,64	0,19±0,10	91,57±3,34	0,09±0,06	96,52±4,32

Таблиця 3

Динаміка впливу на проліферативну фазу запалення нового комбінованого препарату "Доксициклін із глюкозаміном" у порівнянні з його компонентами доксицикліном, глюкозаміном і референс-препаратом "Вольтарен-рапід" (n=35)

Умови дослідду	Доза, мг/кг	Кількість грануляційної тканини, мг	Активність по відношенню до контролю, %
Контроль		50,95±7,58	-
Доксициклін	6,0	51,40±9,31	-0,88±18,28
Глюкозамін	6,0	36,00±5,47	29,34±10,73
Д+Г	12,0	36,97±7,68	24,71±7,81
Вольтарен-рапід	1,0	41,78±8,91	17,99±4,52

і виявляє помірну антиексудативну дію між 2 і 5 годиною (36,08-34,83) розвитку карагенінового набряку. Це свідчить про те, що у великих дозах Д пригнічує синтез і вивільнення кінінів і ПГ. ГА в дозі 50 мг/кг виявляє подібну Д в дозі 50 мг/кг динаміку впливу на ексудативне запалення — не активний в 1-шу годину (13,64%) і помірно ефективний з 2-ої по 5-у годину (у середньому (30%) впливу карагенінового набряку, що також свідчить про здатність інгібувати синтез і вивільнення кінінів і ПГ. У дозі 6 мг/кг ГА активно пригнічує розвиток набряку в перші 2 години, що вказує на те, що в даній дозі ГА значно пригнічує біосинтез і вивільнення гістаміну, серотоніну і дещо слабше — кінінів.

Новий комбінований антимікробний препарат "Доксициклін із глюкозаміном" в умовно терапевтичній дозі 12 мг/кг у перші 2 год розвитку карагенінового набряку

виявляв антиексудативну активність на рівні 46-48%, у 3-у год — 26%, а на 4-у і 5-у активність була відсутня. Це вказує, по-перше, на здатність нового препарату інгібувати дію гістаміну, серотоніну і слабше — кінінів, по-друге, на деяку синергічну дію Д та ГА при спільному застосуванні у співвідношенні 1:1.

При вивченні комбінованого препарату "Доксициклін із глюкозаміном" у великій дозі 100 мг/кг синергічна дія не спостерігалася, однак була виявлена помірна антиексудативна дія на рівні 30% протягом усіх 5-ти годин експерименту, що вказує на інгібування всіх медіаторів запалення, які беруть участь у розвитку ексудативного карагенінового запалення.

Референс-препарат "Вольтарен-рапід" у дозі 1 мг/кг виявив виражену антиексудативну активність, яка перевищувала 50% протягом усього експерименту, що

ще раз підтверджує його ефективність як НПЗЗ і свідчить про коректну відтворюваність запропонованої моделі.

Таким чином, у результаті проведеного дослідження встановлено, що новий комбінований антимікробний препарат "Доксициклін із глюкозаміном" у порівнянні з окремими компонентами комбінації Д та ГА, а також з референс-препаратом "Вольтарен-рапід" виявляє більш високі антиексудативні властивості, ніж його компоненти у відповідних дозах, що дозволяє зробити висновок про їхню синергічну взаємодію. Отримані результати підтверджують доцільність створення такого препарату і перспективність його застосування в умовах клініки для лікування захворювань бактеріальної природи, одним з патогенетичних механізмів яких є ексудативне запалення.

Результати дослідження впливу на альтеративне запалення нового комбінованого препарату "Доксициклін із глюкозаміном" у порівнянні з його компонентами Д та ГА і референс-препаратом "Вольтарен-рапід" представлені в табл. 2.

Після ін'єкції оцтової кислоти і декстрану протягом перших двох днів відбувалося формування виразкової поверхні (відторгнення некротичної тканини, у деяких випадках відділення гнійного ексудату). На десятій день площа ранового процесу була максимальною. Репарація у всіх групах почалася з дванадцятої доби і продовжувалася до 30-31 дня

[3]. У контрольних тварин спостерігали загоєння ран зі швидкістю 51,4-95,5, що свідчить про добру реактивність щурів (табл. 2).

Аналіз даних експерименту показав, що під впливом досліджуваних об'єктів показники площі ранової поверхні і швидкості її загоєння не відрізняються від показників у групі контролю. Це свідчить про відсутність істотного впливу нового комбінованого антимікробного препарату "Доксициклін із глюкозаміном", його компонентів Д та ГА, а також препарату порівняння "Вольтарен-рапід" у період хронічного асептичного запалення шкіри і підшкірної клітковини у щурів, коли переважають альтеративні зміни.

Результати виліку нового комбінованого антимікробного препарату "Доксициклін із глюкозаміном" у порівнянні з окремими компонентами комбінації доксицикліну і глюкозаміну, а та-

кож з референс-препаратом "Вольтарен-рапід" на проліферативну фазу запалення представлені в табл. 3.

Результати проведеного експерименту свідчать про те, що (табл. 3) субстанція Д в дозі 6 мг/кг не чинить впливу на процеси проліферації, тому що середнє значення показника кількості грануляційної тканини в даній групі тварин вірогідно не відрізняється ($P > 0,05$) від значення цього показника у групі контрольної патології. ГА в еквівалентній Д дозі 6 мг/кг помірно сприяв зниженню рівня утворення грануляційно-фіброзної тканини. Такий же помірний антипроліферативний ефект виявив і новий комбінований препарат "Доксициклін із глюкозаміном" в умовно терапевтичній дозі 12 мг/кг, що свідчить про позитивний вплив ГА на Д при їхній комбінації. Референсний препарат "Вольтарен-рапід"

також виявив помірну антипроліферативну активність, що було підтвердженням відомих даних літератури про антипроліферативні властивості вивченого препарату [1, 18].

ВИСНОВКИ

1. Проведеним дослідженням встановлено, що новий препарат "Доксициклін із глюкозаміном" виявляє антиексудативні властивості. Величина антиексудативної активності може бути визначена як підсумовування фармакологічного ефекту.

2. Препарат "Доксициклін із глюкозаміном" не чинить значного впливу на запальний процес з перевагою альтеративних змін.

3. Новий комбінований препарат "Доксициклін із глюкозаміном" в умовно терапевтичній дозі 12 мг/кг виявляє помірний антипроліферативний ефект, який можна порівняти із впливом глюкозаміну гідрохлориду.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дзяк Г.В., Викторов А.П., Гришина Е.И. *Нестероидные противовоспалительные препараты*. — К.: Морион, 1999. — 112с.
2. Дроговоз С.М., Зупанець І.А., Яковлева Л.В. та ін. // *Фармац. журн.* — 1992. — №2. — С. 37-41.
3. Дроговоз С.М., Зупанець І.А., Мохорт М.А. та ін. *Експериментальне (доклінічне) вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як нестероїдні протизапальні засоби*. У кн.: *Доклінічні дослідження лікарських засобів (метод. рекомендації) / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова*. — К.: Авіцена, 2001. — С. 292-306.
4. Захаревский А.С. *Влияние некоторых производных индола на нервную систему*. — Дис. ... канд. мед. наук. — Мн, 1962. — С. 78-80.
5. Зупанець І.А., Джехад А.С.Ибрахим, Гринцов Е.Ф. // *Клінічна фармація*. — 2002. — Т. 6, №3. — С. 41.
6. Зупанець І.А., Джехад А.С.Ибрахим, Гринцов Е.Ф., Силаева Л.Ф. // *Клінічна фармація*. — 2003. — Т. 7, №2. — С. 40-42.
7. Зупанець І.А., Джехад А.С.Ибрахим, Гринцов Е.Ф., Воронина И.С. *К механизму потенцирующего действия глюкозамина* // *Матер. Міжнар. науково-практ. конф. "Клінічна фармація: 10 років в Україні", 20-21 листопада 2003 року*. — Х.: "Золоті сторінки", 2003. — С. 112.
8. Компанцев В.А., Погорелое В.И., Алябьев А.А. и др. *Разработка лекарственных средств на основе аминокликанов* // *Матер. IX Росс. Нац. конгр. "Человек и лекарство"*. — М., 2002. — С. 633.
9. Навашин П.С. // *Антибиотики и химиотерапия*. — 1991. — №1. — С. 48-51.
10. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. // *Докл. АН СССР*. — 1979. — Т. 247, №6. — С. 1513-1516.
11. Bianchi A., Legouge R., Lefevre J.C., Askienazy-Elbhar M. // *Pathol. Biol. Paris*. — 1996. — May, Vol. 44 (5). — P. 347-50.
12. Brandt K.D. // *J. Rheum.* — 1995. — Vol. 22, №1, Suppl. 43. — P. 149-151.
13. Catalan F., Milovanovic A., Prouteau C. // *Pathol. Biol. Paris*. — 1998. — №2. — С. 144-146.
14. Di Rosa M., Giround J.P., Willoughby D.A. // *J. Pathol.* — 1971. — Vol. 104, №15. — P. 29.

15. Goldaracena-Tanco M., Aza-Pascui-Salcedo M., Barcena-Caamano M. et al. // *Aten. Primaria.* — 1996. — Oct. 31, Vol. 18 (7). — P. 357-361.
16. Israel H.A., Ramamurthy N.S., Greenwald R. et al. // *Adv. Dent. Res.* — 1998. — Nov., Vol. 12 (2). — P. 51-55.
17. Miyazaki T., Yomota Ch., Okada S. // *J. of Controlled Release.* — 2001. — №3. — P. 337-347.
18. Otterness Ivan G., Gans Daniel J. // *J. Pharm. Sci.* — 1988. — Vol. 77, №9. — P. 790-795.
19. Pellerin J.L., Bourdeau P., Sebbag H. et al. // *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* — 1998. — №2. — P. 115-133.
20. Peters H.J. // *Z. Arztl. Fortbild. Jena.* — 1995. — Jun; Vol. 89 (3). — P. 279-286.
21. Saraiva A.H., Jones R.N., Erwin. M. et al. // *Rev. Assoc. Med. Bras.* — 1997. — №3. — C. 217-222.
22. Solera J., Martinez-Alfaro E., Saez L. et al. // *Med. Clin. Bare.* — 1994. — №19. — C. 731-738.
23. Yu Jr.L.P Jr., Burr D.B., Brandt K.D. et al. // *J. Rheum.* — 1996. — Vol. 23, №1. — P. 137-142.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Пушкінська, 27. Тел. (057) 706-30-72.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 12.02.2004 р.

Інформаційне повідомлення відділу фармакологічного нагляду Державного фармакологічного центру МОЗ України

Про підозрювану побічну дію препарату **“Диклофенак-Дарниця”** (р-н д/ін. 2,5% по 3 мл в амп.) виробництва ЗАТ “Фармацевтична фірма “Дарниця”, Україна

Хворій (67 років) на ревматоїдний артрит у стадії загострення, тяжка форма був призначений у комплексній фармакотерапії (одночасно хвора приймала фуросемід) диклофенак-Дарниця (внутрішньом'язово по 3 мл 2 рази на добу). Через чотири доби після початку прийому у неї виникла шлунково-кишкова кровотеча. Гемоглобін у хворої знизився зі 106 до 89 г/л. Диклофенак-Дарниця був відмінений. Була призначена медикаментозна терапія кровоспинними та знеболювальними засобами. Після вжитих заходів зазначені явища зникли без наслідків. Відомо, що раніше хвора одержувала цей препарат, але небажана реакція не спостерігалася.

Алергологічний анамнез не обтяжений. Будь-які незвичайні реакції на ліки або хімічні речовини в минулому не відомі.

Інформація надійшла від Вінницького регіонального відділення ДФЦ МОЗ України.