



Ф. В. Гладких, Н. Г. Степанюк

Експериментальне обґрунтування доцільності застосування вінборону з метою підвищення знеболювальної активності ібупрофену

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

Ключові слова:

ібупрофен, вінборон,
PASS-аналіз,
антиноцицептивна активність.

Актуальним напрямом сучасної фармакології є підвищення безпечності нестероїдних протизапальних засобів, оскільки для них притаманні так звані «клас-специфічні» побічні реакції, провідне місце серед них посідає гастротоксичність. У попередніх дослідженнях довели здатність вінборону нівелювати ульцерогенний ефект ібупрофену (Гладких Ф. В. та співав., 2014), а наявність у вітчизняного спазмолітика доведеної власної безпечної активності (Степанюк Г. І. та співав., 2007) слугує підґрунтям дослідження впливу вінборону на анальгетичний компонент фармакотерапевтичного ефекту ібупрофену.

Мета роботи – здійснити *in silico* дослідження взаємозв'язку «молекулярна структура – анальгетична активність» вінборону та експериментально *in vivo* обґрунтувати доцільність застосування вінборону з метою підвищення анальгетичної активності ібупрофену на моделі ад'ювантного артриту в щурів.

Матеріали та методи. Дослідження взаємозв'язку «молекулярна структура – анальгетична активність» вінборону здійснили *in silico* за допомогою PASS-аналізу спектра біологічної активності, котрий виконали в режимі online за безпосереднього введення структурної формули вінборону в браузері, використовуючи Marvin JS web-ресурсу «PASS Online» (<http://www.way2drug.com/passonline>). Анальгетичну активність *in vivo* досліджували на моделі гострого термічного болю, який моделювали в загальноприйнятому поведінковому тесті ноцицепції «Гаряча пластинка» (Hot plate).

Результати. За даними PASS-прогнозу, механізмами реалізації безпечної активності вінборону є: агонізм щодо ванілоїдних (TRPV1) рецепторів ($P_a=0,490$; $P_i=0,008$), агонізм до μ (mu) рецепторів ($P_a=0,323$; $P_i=0,036$), інгібування GABA ($P_a=0,329$; $P_i=0,089$) тощо. Експериментальні дослідження показали, що при комбінованому застосуванні ібупрофену та вінборону анальгетична активність перевищувала аналогічні показники при монотерапії ібупрофеном у дозі 73 мг/кг – на 15,3%, а в дозі 218 мг/кг – на 20,4%. Крім того, варто відзначити, що анальгетична активність під час комбінованого застосування ібупрофену в дозі 218 мг/кг і вінборону (+39,8%) перевищувала сумарну анальгетичну активність монотерапії ібупрофеном у тій самій дозі (+19,4%) та монотерапії вінбороном (+10,9%), що вказує на потенціювання анальгетичного ефекту обох препаратів при їхньому комбінованому застосуванні.

Висновки. Провідним механізмом у реалізації анальгетичного компонента вінборону, за даними PASS-прогнозу, є його агонізм до TRPV1. Результати досліджень вказують на здатність вінборону потенціювати антиноцицептивну активність ібупрофену.

Экспериментальное обоснование целесообразности применения вінборона для повышения обезболивающей активности ибупрофена

Ф. В. Гладких, Н. Г. Степанюк

Актуальным направлением современной фармакологии является повышение безопасности нестероидных противовоспалительных препаратов, поскольку для них характерны так называемые «класс-специфические» побочные реакции, ведущее место среди которых занимает гастротоксичность. В предыдущих исследованиях нами была доказана способность вінборона нивелировать ульцерогенный эффект ибупрофена (Гладких Ф. В. и соавт., 2014), а наличие у отечественного спазмолитика доказанной собственной болеутоляющей активности (Степанюк Г. И. и соавт., 2007) служат основой исследования влияния вінборона на анальгетический компонент фармакотерапевтического эффекта ибупрофена.

Цель работы – провести *in silico* исследование взаимосвязи «молекулярная структура – анальгетическая активность» вінборона и экспериментально *in vivo* обосновать целесообразность применения вінборона с целью повышения анальгезирующей активности ибупрофена на модели адьювантного артрита у крыс.

Материалы и методы. Исследование взаимосвязи «молекулярная структура – анальгетическая активность» вінборона выполнено *in silico* с помощью PASS-анализа спектра биологической активности, который проводили в режиме online при непосредственном введении структурной формулы вінборона в браузер, используя Marvin JS web-ресурса «PASS Online» (<http://www.way2drug.com/passonline>). Анальгезирующую активность *in vivo* исследовали на модели острой термической боли, которую моделировали в общепринятом поведенческом тесте ноцицепции «Горячая пластинка» (Hot plate). Латентный период болевой реакции определяли в начале («0» день), на 7, 14, 21 и 28 день эксперимента.

Результаты. По данным PASS-прогноза, механизмами реализации болеутоляющей активности вінборона выступают: его агонизм по отношению к ванилоидным (TRPV1) рецепторам. ($P_a=0,490$; $P_i=0,008$), агонизм к μ (mu) рецепторам ($P_a=0,323$;

$P_i=0,036$), інгібування GABA ($P_a=0,329$; $P_i=0,089$) і інші. Експериментальні дослідження показали, що при комбінованому застосуванні ібупрофену, і винборона анальгетична активність перевищала аналогічні показники при монотерапії ібупрофеном в дозі 73 мг/кг – на 15,3%, а в дозі 218 мг/кг – на 20,4%. Крім того, варто відзначити, що анальгетична активність при комбінованому застосуванні ібупрофену в дозі 218 мг/кг і винборона (+39,8%) перевищала сумарну анальгезируючу активність монотерапії ібупрофеном в тій же дозі (+19,4%) і монотерапії винбороном (+10,9%), що вказує на потенціювання анальгетичного ефекту обох препаратів при їх одночасному застосуванні.

Висновки. Ведущим механізмом в реалізації анальгетичного компонента винборона, по даним PASS-прогнозу, виступає його агонізм до TRPV1. Результати проведених нами досліджень *in vivo* вказують на здатність винборона посилювати антиноцицептивну активність ібупрофену.

Ключові слова: ібупрофен, винборон, PASS-аналіз, антиноцицептивна активність.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки і практики. – 2016. – № 3 (22). – С. 41–48

Experimental substantiation of effectively administration of vinboron for analgesic activity increase of ibuprofen

F. V. Hladkykh, N. H. Stepaniuk

Background. The increase of NSAIDs safety is current direction of modern pharmacology, because of so-called “class-specific” adverse reactions, which are common to this class, and the leading place among them is occupied by gastro-intestinal toxicity. In previous studies we have proved the ability of vinboron to neutralize ulcerogenic effect of ibuprofen (Hladkykh F.V. and al., 2014). The presence of the proven analgesic activity in the domestic antispasmodics (Stepaniuk H.I. and al., 2007) serves as the basis for research of vinboron action on analgesic aspect of ibuprofen pharmacotherapeutic effect.

Aim is to conduct research *in silico* of the relation «molecular structure – analgesic activity» of vinboron and to prove experimentally *in vivo* the practicability of vinboron using with the aim to increase the analgesic activity of ibuprofen on the model of adjuvant arthritis in rats.

Materials and methods. The study of the relation «molecular structure – activity analgesic» of vinboron was conducted *in silico* by PASS- analysis of biological activity spectrum. The analysis was set online with direct insertion of structural formula of vinboron in browser using Marvin JS web-resource «PASS Online» (<http://www.way2drug.com/passonline>). Analgesic activity *in vivo* was studied on the model of acute thermal pain, which was simulated in the conventional behavioral test of nociception «Hot plate». The lag of pain reaction was determined at the beginning («0» day), on 7, 14, 21 and 28 days of experiment.

Results and discussion. According to the PASS-forecast the mechanisms of vinboron analgesic activity is caused by agonism towards the vanilloid (TRPV1) receptors ($P_a=0,490$; $P_i=0,008$), agonism to the μ (μ) – receptor ($P_a=0,323$; $P_i=0,036$), inhibition of GABA ($P_a=0,329$; $P_i=0,089$) and others. Experimental studies have shown that the combined administration of ibuprofen and vinboron analgesic activity was higher than the results by ibuprofen monotherapy at a dose of 73 mg/kg up by 15.3%, and at a dose of 218 mg/kg up by 20.4%. Besides, it is worthwhile to note that analgesic activity during the integrated administration of ibuprofen at a dose of 218 mg/kg and vinboron (+39.8%) was higher than the total analgesic activity of ibuprofen monotherapy at the same dose (+19.4%) and monotherapy of vinboron (+10.9%), that points at potentiation of analgesic effect of both drugs during their integrated administration.

Conclusions. According to the PASS-analysis, the leading mechanism in analgesic component implementation of vinboron is its agonism to TRPV1. The results of our *in vivo* studies point at the ability of vinboron to intensify the antinociceptive activity of ibuprofen.

Key words: *Ibuprofen, Vinboron, PASS Analysis, Antinociceptive Effect.*

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2016; №3 (22): 41–48

Біль – незмінний супутник більшості захворювань і часто є основною причиною звертань за медичною допомогою. Саме больовий синдром є головною причиною зниження якості життя пацієнта під час низки захворювань і може домінувати в їхній клінічній картині – бути провідним, а іноді єдиним симптомом захворювання [1–3].

Механізм болю складний та гетерогенний. Порушення охоплює механо- і хеморецептори. Викид медіаторів запалення може викликати тривалу імпульсацію з розвитком сенситизації ноцицептивних нейронів і формуванням гіпералгезії пошкодженої тканини. Сенсорний імпульс, що виникає, по периферичних нервових закінченнях надходить у спинний мозок, на рівні якого можуть формуватись відповідні больові (захисні) рефлексії. Далі висхідний ноцицептивний потік досягає підкірки. На рівні гіпоталамуса та лімбічної субстанції відбувається формування емоційних і поведінкових реакцій, вегетативних, ендокринних зрушень, що супроводжують

біль. Остаточний аналіз ноцицептивної інформації, що надходить, здійснюється корою головного мозку [4].

Лікування больового синдрому є пріоритетним напрямом більшості галузей медицини, а раціоналізація використання наявних засобів зі знеболювальною активністю є актуальною проблемою світової фармакології.

Відомо, що виникнення ноцицептивного подразнення може сприяти розвитку спазму гладеньких м'язів у системах кровообігу, дихання, жовчо- і сечовиділення. Це призводить до порушення гомеостазу, наростання больової перцепції (формування больового відчуття), що слугує підґрунтям доповнення анальгетичної фармакотерапії засобами зі спазмолітичною активністю [5]. Серед наявних спазмолітичних засобів нашу увагу привернув новий вітчизняний препарат вінборон (ресинтезований на ПАТ «Науково-виробничий центр «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод» (НВЦ «БХФЗ») фенікаберан), якому, крім здатності усувати спазм, притаманний ще цілий комплекс цінних фарма-

кологічних властивостей: протизапальна, знеболювальна (місцева та центральна), протиішемічна, протиаритмічна, антигіпоксична, антиоксидантна, антиагрегантна, імуномодельовальна, протимікробна дії, стимулюючий вплив на мікроциркуляцію та репаративні процеси, які вдало доповнюють один одного [6].

Ретроспективно розглядаючи еволюцію засобів для симптоматичного лікування як гострих, так і хронічних больових синдромів різного генезу, бачимо, що беззаперечними лідерами протягом тривалого часу є нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) та ненаркотичні анальгетики з огляду на свою доступність і високу ефективність [2]. Слід відзначити, що при болях запальної етіології найактивніші НПЗЗ не поступаються за ефективністю опіоїдним (наркотичним) анальгетикам [3].

Актуальним напрямом сучасної фармакології є підвищення безпечності НПЗЗ, оскільки для них притаманні так звані «клас-специфічні» побічні реакції, провідне місце серед них посідає гастротоксичність. Вітчизняними фармакологами запропоноване вирішення цієї проблеми шляхом комбінованого застосування НПЗЗ із препаратами інших фармакологічних груп або з препаратами, котрі володіють політропними фармакологічними властивостями – кверцетином (диклокор), тіотріазоліном (індотрил) тощо [7,8].

Серед НПЗЗ нашу увагу привернуло похідне пропіонової кислоти – ібупрофен, що широко застосовується під час болю різноманітного походження (головний, зубний, мігренозний, біль у спині, м'язовий і суглобовий), володіє виразною протизапальною активністю, використовується для зниження підвищеної температури – полегшує симптоми застуди [2]. Але разом із широкою вживаністю ібупрофен, як і інші НПЗЗ, не позбавлений побічних ефектів, що притаманні цій фармакологічній групі лікарських засобів. За даними О. В. Кашуби та за результатами наших власних досліджень, котрі проведені шляхом аналізу карт-повідомлень про побічні реакції або відсутність ефекту лікарських засобів (форма 137/о), що виникали в пацієнтів Подільського регіону у 2015 р., встановили: ібупрофен посідає провідні позиції за кількістю побічних реакцій під час застосування порівняно з іншими НПЗЗ [9,10]. Зважаючи на це, постає завдання пошуку нових шляхів поліпшення профілю безпечності вказаного антифлогістика. З метою вирішення цього завдання запропонували превентивне застосування вінборону для поліпшення профілю безпечності ібупрофену. У попередніх дослідженнях довели здатність вінборону нівелювати ульцерогенний ефект ібупрофену [11]. Наявність у вінборону доведеної власної безпакійливої активності (Г. І. Степанюк і співав., 2007) і широке застосування ібупрофену в усуненні больового синдрому вказують на доцільність дослідити вплив вінборону саме на анальгетичний компонент фармако-терапевтичного ефекту ібупрофену [2,18].

Спираючись на висновки Д. О. Філімонова та В. В. Поройкова (Москва, 2006) про взаєморозташування у просторі атомів вільної молекули в основному стані

як необхідну та достатню характеристику її структури, що й визначає результат впливу речовини на біологічний об'єкт, поставили завдання: вперше здійснити дослідження взаємозв'язку «молекулярна структура – анальгетична активність» вітчизняного спазмолітика вінборону (рис. 1) [12,13].

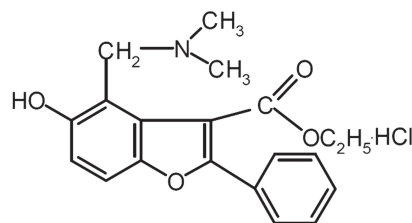


Рис. 1. Вінборон (2-феніл-3-карбетокси-4-диметиламінометил-5-оксибензофурану гідрохлорид).

Мета роботи

Здійснити *in silico* дослідження взаємозв'язку «молекулярна структура – анальгетична активність» вінборону. Експериментально *in vivo* обґрунтувати доцільність застосування вінборону з метою підвищення анальгетичної активності ібупрофену на моделі ад'ювантного артрити у щурів.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження взаємозв'язку «молекулярна структура – анальгетична активність» вінборону виконали *in silico* за допомогою PASS-аналізу спектра біологічної активності, котрий проводили в режимі online за безпосереднього введення структурної формули вінборону в браузері, використовуючи Marvin JS web-ресурсу «PASS Online» (<http://www.way2drug.com/passonline>). Алгоритм роботи програми ґрунтується на аналізі структурних MNA-дескрипторів (Multilevel Neighbourhoods of Atoms), набір яких генерується на основі структурної формули вінборону та являє собою список атомів, що утворюють молекулу, та список зв'язків між ними. Прогноз здатен забезпечити кількісне передбачення понад 4 тисяч видів біологічної активності (фармакологічні ефекти, біохімічні механізми дії, ефекти взаємодії з системою метаболізму, ефекти впливу на генну експресію, ефекти впливу на білки-транспортери) із середньою точністю 77–95%. Він здійснюється шляхом аналізу зв'язків «структура – активність» у навчальній вибірці, яка містить інформацію про структуру та біологічну активність понад 300 тисяч органічних сполук [12,13].

Як вихідну інформацію одержали перелік прогнозованих видів активності з оцінками вірогідності наявності кожного виду активності P_a та вірогідності відсутності кожного виду активності P_i , які можуть набувати значення в діапазоні від нуля до одиниці. Чим більше для конкретного виду активності значення P_a та чим менше значення P_i , тим вищий шанс виявити цю активність в експерименті [12,13].

Якщо обмежитись тільки видами активності з найвищою прогнозованою вірогідністю P_a , то встановлені

властивості можуть виявитись лише аналогами відомих фармакологічних препаратів, оскільки вірогідність P_a показує передусім схожість структури молекули сполуки, що досліджували, зі структурами молекул найтипівіших «активних» речовин навчальної вибірки [12,13]. Наприклад, якщо при аналізі прогнозованого спектра активностей для дослідження обрати ті, які мають $P_a > 0,7$, то дуже ймовірно, що досліджувана сполука проявить цей вид активності в експерименті, але майже напевно буде аналогом добре відомих фармацевтичних препаратів. За умови значення $0,5 < P_a < 0,7$ речовина менш ймовірно проявляє цю активність в експерименті, але може не мати аналогів. Під час вивчення активності зі значенням $P_a < 0,5$ вірогідність прояву активності в експерименті низька, але речовина може бути оригінальною хімічною сполукою та започаткувати новий хімічний клас для досліджуваного виду біологічної активності [12,13].

Експериментальну верифікацію даних PASS-прогнозу *in vivo* здійснили на 49 статевозрілих нелінійних щурах-самцях із масою тіла 180–220 г, які утримувались у віварії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (ВНМУ ім. М. І. Пирогова) в умовах природної зміни дня та ночі, на стандартному водно-харчовому раціоні (їжа та вода *ad libitum*). Тварини отримували стандартне харчування у вигляді збалансованого гранульованого корму за встановленими нормами [14]. Для експериментів відібрали тварин, латентний період больової реакції (ЛПБР) в яких не перевищував 15 с та з середнім рівнем рухової активності, котру заздалегідь визначали в тесті «відкрите поле». Згідно з науковими літературними даними, тварини з такими характеристиками переважають в популяції та саме в них розвивається найбільш типова реакція на будь-який подразник [15,16].

Усі експериментальні дослідження над лабораторними тваринами здійснили в атестованій Головною організацією метрологічної служби Міністерства охорони здоров'я України лабораторії кафедри фармакології ВНМУ ім. М. І. Пирогова (свідоцтво про атестацію № 023/13 від 05.03.2013 р.) з урахуванням вимог належної лабораторної практики GLP (Good Laboratory Practice) і з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, які використовуються в експериментах і в інших наукових цілях від 18 березня 1986 р., Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 р. про захист тварин, які використовуються для наукових цілей, наказу МОЗ України «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» № 944 від 14 грудня 2009 р., Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447-IV від 21 лютого 2006 р.

Піддослідних тварин поділили на 7 груп: I – інтактні щури (n=7), II – щури зі змодельованим АА без лікування (контроль), III (n=7) та IV (n=7) – щури з АА, які отримували ібупрофен (73 мг/кг, в/ш та 218 мг/кг, в/ш

відповідно), V (n=7) – щури з АА, які отримували вінборон (11 мг/кг, в/ш), VI (n=7) та VII – щури (n=7), ліковані ібупрофеном (73 мг/кг, в/ш та 218 мг/кг, в/ш відповідно) в комбінації з вінбороном (11 мг/кг, в/ш).

Різниця цільової концентрації речовин у крові ссавців, що залежить від інтенсивності їх надходження та елімінації, зумовлює видові відмінності в дозах лікарських препаратів для досягнення еквівалентних ефектів. Тому для екстраполяції середньотерапевтичних доз для людини на ізоєфективні дози для щурів здійснили перерахунок за методом Ю. Р. Риболовлева та співав. (1979) із використанням константи видової витривалості (R), яка обчислюється окремо для кожного виду за формулою: $R = \sqrt{Q \times V / Kc}$, де Q – основний обмін, $ккал/кг \times год$; V – об'єм серцевої діяльності, $л/кг \times год$; Kc = (маса мозку, $г/маса \text{ тіла, кг}$) – коефіцієнт церебрації [18]. Показник $\sqrt{Q \times V}$ характеризує витривалість організму до дії хімічної речовини, а коефіцієнт церебрації (Kc) дає змогу врахувати можливі зміни у функціонуванні регуляторних механізмів нервової системи в підтримці гомеостазу. Так, для щурів $R = \sqrt{(4,8 \text{ ккал/кг} \cdot год \times 23,0 \text{ л} \cdot кг/год) / (1,68 \text{ г}/0,2 \text{ кг})} = 3,62$; для людини $R = \sqrt{(1,02 \text{ ккал/кг} \cdot год \times 6,4 \text{ л} \cdot кг/год) / (1400 \text{ г}/70,0 \text{ кг})} = 0,57$ [18]. Згідно з методикою доза для щурів (D_2) вираховується згідно з пропорцією: $D_1/R_1 = D_2/R_2$, де D_1 – доза для людини, $мг/кг \text{ маси тіла}$; D_2 – доза для щура, $мг/кг \text{ маси тіла}$; R_1 – константа видової витривалості для людини; R_2 – константа видової витривалості для щура. Відповідно $D_2(мг/кг) = (D_1(мг/кг) \times R_2) / R_1 = D_1(мг/кг) \times 6,35$. Так, доза ібупрофену (ЗАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця», Україна) для людини 2400 мг (0,8 г по 3 р/д), яка володіє достатньою протизапальною активністю та рекомендована для лікування РА [17], при перерахунку $((2400 \text{ мг}/70 \text{ кг}) \times 3,62) / 0,57 = 218 \text{ мг/кг}$ відповідає ізоєфективній дозі для щурів 218 мг/кг. Доза ібупрофену для людини 800 мг, яка є оптимальною для досягнення анальгетичного ефекту [17], відповідає дозі 73 мг/кг для щурів – $((800 \text{ мг}/70 \text{ кг}) \times 3,62) / 0,57 = 73 \text{ мг/кг}$. Доза вінборону (ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна) для людини 120 мг (0,04 г по 3 р/д), яка рекомендована до застосування в лікуванні хворих на виразкову хворобу шлунка та дванадцятипалої кишки [6], відповідає дозі для щурів 11 мг/кг – $((120 \text{ мг}/70 \text{ кг}) \times 3,62) / 0,57 = 11 \text{ мг/кг}$.

Вінборон (ЗАТ НВЦ «БХФЗ», Україна), що розчинений у воді *pro injectionibus* (ПАТ «Галичфарм», Україна), вводився за 60 хв до введення ібупрофену, двічі на добу.

АА моделювали шляхом субплантарного введення повного ад'юванту Фрейнда (склад: 1 частина ланоліну, 2 частини вазелінової олії та вбита вакцина БЦЖ із розрахунку 5 мг/мл) у задню праву лапку з розрахунку 0,1 мл (10 мкл) на щура («Доклінічні дослідження» за ред. О. В. Стефанова, 2001). День введення ад'юванту вважали як «0» день експерименту. Максимальний прояв місцевої запальної реакції, котра супроводжувалась значним збільшенням об'єму кінцівки визначався на 12–14 добу [14], далі активність запального процесу поступово

Таблиця 1

PASS-прогноз компонентів
анальгетичної активності вінборону

№	Pa	Pi	Activity name
1	0,490	0,008	Vanilloid 1 agonist
2	0,441	0,014	Anesthetic
3	0,411	0,007	Anesthetic local
4	0,323	0,036	Sigma 1 receptor agonist
5	0,329	0,089	GABA aminotransferase inhibitor
6	0,239	0,097	Anesthetic general
7	0,241	0,105	Sigma receptor agonist
8	0,309	0,175	Antinociceptive

зменшувалась. Лікування АА здійснювали з 14 по 28 день шляхом внутрішньошлункового введення препаратів, що досліджували. Початок введення лікарських засобів відповідав максимальній запальній реакції [14].

Анальгетичну активність *in vivo* досліджували на моделі гострого термічного болю, який моделювали в загальноприйнятому поведінковому тесті ноцицепції «Гаряча пластинка» (Hot plate). ЛПБР визначали на початку («0» день), на 7, 14, 21 та 28 добу експерименту [14]. Як термічний подразник використовували закріплений металевий хірургічний лоток (Surgiwel, розмір: 300×220×30 мм), що знаходився на водяній бані з постійною температурою 55,0±0,6 °С, яка підтримувалась за допомогою нагрівального елемента з термостатом [19]. Температура металевої пластинки контролювалась за допомогою пірометра «Німбус-420».

Як показник больового подразнення реєстрували ЛПБР – мінімальний час (у секундах) від моменту розміщення щура на гарячій пластинці до моменту першої рухової реакції больового рефлексу (відсмикування лап, облизування подушечок передніх або задніх лап, підстрибування, вокалізація) як прояву поведінкової відповіді на ноцицептивну стимуляцію [19]. При цьому інші поведінкові реакції (пасивне/активне обнюхування, стійки, грумінг, постукування лапами, чистка тіла, завмирання) ігнорувались. Для запобігання термічних уражень під час експерименту час експозиції тварин у тесті «Гаряча пластинка» не перевищував 60 с.

Анальгетичну активність оцінювали на 21 та 28 день експерименту щодо змін ЛПБР порівняно з вихідними (фон) даними:

$$\text{Анальгетична активність} = \left(\frac{\text{ЛПБР}_{\text{кінцевий}} - \text{ЛПБР}_{\text{фон}}}{\text{ЛПБР}_{\text{фон}}} \right) \times 100\%$$

Враховуючи той факт, що у гризунів больовий поріг протягом доби варіює, експерименти проводили в один і той самий час світової половини доби (з 9 до 12 год) [15].

Цифрові дані наведені у вигляді «M±m» для первинної вибірки (n), де M – середнє арифметичне значення, m – стандартна похибка. Вірогідність розбіжностей визначали методом варіаційної статистики з використанням двовибіркового t-критерію Стьюдента. Розрахунки здійснили за допомогою електронних таблиць Excel програмного забезпечення Microsoft Office-2010. Статистично вірогідними вважали зміни при рівні вірогідності вище ніж 95% (p<0,05) [20].

Результати та їх обговорення

PASS-аналіз показав широкий спектр прогнозованої біологічної активності вінборону (більше ніж 170 найменувань із Pa>0,3), що цілком узгоджується з даними фахової літератури про політропність фармакологічних ефектів вітчизняного спазмолітика [6]. Найбільш вірогідні (Pa>0,3) результати прогнозу щодо механізмів болезаспокійливої активності препарату, що досліджували, наведені в таблиці 1.

З імовірністю 49,0% провідним механізмом анальгетичної активності вінборону може бути агонізм щодо ванілоїдних рецепторів (позначаються як VR1 – vanilloid receptor або TRPV1 – transient receptor potential vanilloid), що відіграють велику роль у формуванні та проведенні больових імпульсів. Згідно з даними літератури, ванілоїдний компонент антиноцицептивної активності притаманний деяким НПЗЗ, зокрема диклофенаку [16].

TRPV1 рецептори локалізуються на плазматичній мембрані ноцицептора (від периферичного нервового закінчення до центрального відрізка), на чутливих нейронах систем блукаючого та трійчастого нервів, у симпатичних нервових сплетеннях кишківника, сечового міхура, в деяких структурах центральної нервової системи (стріатум, гіпокамп, ядра мозочка), а також у клітинах інших тканин (кишковий епітелій, епітелій сечового міхура тощо). Ванілоїдні рецептори активуються не тільки під дією специфічних лігандів (ванілоїдів), але здатні до неспецифічної активації під впливом підвищеної температури, ацидозу, змін трансмембранного потенціалу внаслідок іонного дисбалансу, а також під дією ліпідів (імовірно продуктів метаболізму арахідонової кислоти) [21].

Механізм знеболювальної дії ванілоїдних агоністів з анальгетичною активністю ґрунтується на повільному, рідкому та тривалому відкритті іонних каналів, що призводить до відповідного характеру надходження у клітину катіонів (переважно Ca²⁺ та Na⁺). Але зміни трансмембранного потенціалу внаслідок надходження позитивно заряджених іонів до цитоплазми ноцицептора не досягають порогового рівня, а відповідно потенціал дії (нервовий імпульс) не генерується та не розповсюджується [22].

За даними наукової літератури, агоністи μ (mu) та σ (sigma) рецепторів купують біль, що викликаний високою температурою, механічними, хімічними подразниками [1,22].

Інгібування амінотрансферази γ (gamma)-амінолінійної кислоти (GABA) супроводжується підвищенням концентрації відзначеного медіатора. Вказані зміни призводять до збільшення провідності для іонів хлору, що, своєю чергою, стабілізує клітинну мембрану до рівня, близького до значення потенціалу спокою [22].

В експериментальних дослідженнях довели, що на 14 добу розвиток АА в нелікованих щурів супроводжувався статистично вірогідним зменшенням тривалості ЛПБР на 46,0% та становив 7,4 с. Це відповідає літературним науковим даним про зниження порогу больової чутливості, а відповідно – й зростанню латентного періоду формування захисного рефлексу у відповідь на подразник при розвитку системних запальних захворювань [14].

Досліджуючи супраспинальний компонент антиноцицептивної активності ібупрофену, встановили: на 21 добу експерименту ЛПБР статистично вірогідно збільшився щодо початкових показників на 9,7% при застосуванні ібупрофену в дозі 73 мг/кг та на 15,3% при застосуванні ібупрофену в дозі 218 мг/кг (табл. 2) та становив 11,8 с і 14,6 с відповідно. На 28 добу анальгетична активність монотерапії АА ібупрофеном у дозі 218 мг/кг становила 19,4%.

ЛПБР групи щурів з АА, які отримували вінборон у дозі 11 мг/кг, на 28 добу експерименту статистично вірогідно зріс на 10,9% щодо початкових показників і становив 12,7 с.

Анальгетична активність під час комбінованого застосування ібупрофену в дозі 73 мг/кг і вінборону на 28 добу експерименту становила +31,4%. При комбінованому застосуванні ібупрофену в дозі 218 мг/кг і вінборону анальгетична активність (+39,8%) статистично вірогідно перевищувала аналогічні показники при монотерапії ібупрофеном (+19,4%) на 20,4%. Це є підтвердженням спрогнозованої, за даними PASS-аналізу, полікомпонентності анальгетичної активності вінборону, що слугує розширенню спектра біохімічних механізмів реалізації антиноцицептивної активності при комбінованому застосуванні ібупрофену з вінбороном та, відповідно, збільшенню знеболювальної активності при АА в щурів.

Крім того, варто відзначити, що анальгетична активність під час комбінованого застосування ібупрофену в дозі 218 мг/кг і вінборону (+39,8%) перевищувала сумарну анальгетичну активність монотерапії ібупрофеном у тій самій дозі (+19,4%) та монотерапії вінбороном (+10,9%), що вказує на потенціювання анальгетичного ефекту обох препаратів під час їхнього комбінованого застосування.

Таблиця 2

Вплив ібупрофену та його комбінації з вінбороном на латентний період больової реакції (ЛПБР), що викликає на термічний подразником у тесті «Гаряча пластинка» ($M \pm m$, $n=7$)

№ групи	Умови досліджу	n	«0» день (початковий показник (до моделюв. АА))	7 день (% щодо початкового показника)	14 день (% щодо початкового показника)	21 день (анальгетична активність, %)	28 день (анальгетична активність, %)
I	Інтакт	7	12,4±0,68	12,2±0,94 e (-1,6%)	12,3±0,7 e (-0,7%)	13,0±1,68 e (+4,2%)	12,1±0,93 e (-2,3%)
II	Контроль (АА без лікування)	7	13,7±1,05*	11,0±0,74* e (-20,1%)	7,4±0,51 (-46,0%)	8,9±0,69* (-35,2%)	10,5±0,88* (-23,7%)
III	АА +Ібупрофен (73 мг/кг)	7	10,8±1,48*#	8,4±1,51# e (-22,1%)	5,9±1,0# (-45,2%)	11,8±1,84*# e (+9,7%)	12,5±1,98*# e (+16,1%)
IV	АА +Ібупрофен (218 мг/кг)	7	12,7±1,79*#	10,3±1,59*# e (-19,0%)	7,1±0,93# (-43,9%)	14,6±1,91* e (+15,3%)	15,2±2,43*# e (+19,4%)
V	АА +Вінборон (11 мг/кг)	7	11,5±1,34*#	9,4±1,48*# e (-18,0%)	6,0±0,94# (-47,3%)	12,2±1,03* e (+6,9%)	12,7±1,87*# e (+10,9%)
VI	АА +Ібупрофен (73 мг/кг) +Вінборон (11 мг/кг)	7	14,3±0,75*# e μ	11,1±0,67*# e μ (-22,2%)	8,0±0,33# e μ (-43,8%)	17,7±0,92 (+24,3%)	18,7±0,88 (+31,4%)
VII	АА +Ібупрофен (218 мг/кг) +Вінборон (11 мг/кг)	7	10,7±1,84*# e μ	8,5±1,59*# e μ (-21,0%)	6,2±1,11# e μ (-42,5%)	14,0±2,0*# e μ (+30,5%)	14,9±1,98*# e μ (+39,8%)

Примітки: * – $p < 0,05$ щодо інтактних тварин; # – $p < 0,05$ щодо контрольних тварин; e – $p < 0,05$ щодо групи монотерапії вінбороном; μ – $p < 0,05$ щодо групи монотерапії ібупрофеном у відповідній дозі; e – $p < 0,05$ щодо початкового показника.

Висновки

1. Провідним механізмом у реалізації анальгетичного компонента вінборону, за даними PASS-прогнозу, виступає його агонізм до TRPV1.

2. Супраспинальний компонент анальгетичної активності під час комбінованого застосування ібупрофену та вінборону перевищував аналогічні показники при монотерапії ібупрофеном у дозі 73 мг/кг на 15,3%, у дозі

218 мг/кг – на 20,4%.

3. Анальгетична активність під час комбінованого застосування ібупрофену та вінборону перевищувала суму аналогічних показників при монотерапії ібупрофеном і монотерапії вінбороном, що вказує на здатність вінборону потенціювати антиноцицептивну активність ібупрофену.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Список літератури

- Management of chronic nonmalignant pain with non-steroidal anti-inflammatory drugs / C.M. Herndon, R.W. Hutchison, H.J. Berdine, et al. // *Pharmacotherapy*. – 2008. – №28(6). – P. 788–805.
- Зупанец І.А. Симтоматическая помощь при боли: взгляд на проблему / И.А. Зупанец // *Фармацевт практик*. – 2013. – №3. – С. 24–25.
- Comparative pain reduction of oral non-steroidal anti-inflammatory drugs and opioids for knee osteoarthritis: systematic analytic review / S.R. Smith, B.R. Deshpande, J.E. Collins, et al. // *Osteoarthritis Cartilage*. – 2016. – №24(6). – P. 962–972.
- Effectiveness of non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of pain in knee and hip osteoarthritis: a network meta-analysis / B.R. Costa, S. Reichenbach, N. Keller, et al. // *Lancet*. – 2016. – №21(387). – P. 2093–2105.
- Нефьодов О.О. Фармакологічні аспекти впливу нестероїдних протизапальних засобів та класичних спазмолітиків на висцеральний біль в експерименті / О.О. Нефьодов, В.І. Мамчур // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. – 2009. – №1(8). – С. 15–19.
- Вінборон – новий вітчизняний спазмолітик з гастропротекторною дією / Н.Г. Черноіван, В.М. Чернобровий, Г.І. Степанюк та ін. // *Сучасна гастроентерологія*. – 2010. – №3(53). – С. 54–57.
- Експериментальне дослідження протизапальних властивостей препарату «Диклокор» / О.С. Попов, С.К. Шебеко, О.І. Шевченко, А.С. Шаламай // *Клінічна фармація*. – 2015. – Т. 19. – №4. – С. 35–39.
- Подплетняя Е.А. Роль кверцетина и тиотриазолина в повышении эффективности НПВС при асептическом воспалении и висцеральной боли у мышей / Е.А. Подплетняя, И.А. Мазур, В.И. Мамчур // *Запорожский медицинский журнал*. – 2008. – №2(1). – С. 129–134.
- Кашуба О.В. Побічні реакції, спричинені застосуванням нестероїдних протизапальних препаратів – анальгетиків-антипіретиків / О.В. Кашуба // *Український медичний часопис*. – 2015. – №2(107). – С. 74–76.
- Stepaniuk N.H. Analysis of adverse reaction of analgesics, antipyretics and non-steroidal anti-inflammatory drugs prescribed by physicians of health care facilities in Podilskyi region during 2015 / N.H. Stepaniuk, F.V. Hladkykh, O.V. Basarab // *Galician Medical Journal*. – 2016. – Vol. 23. – №2. – P. 92–98.
- Гладких Ф.В. Характеристика протизапальної та знеболюючої активності ібупрофену та його комбінації з вінбороном на моделі ад'ювантного артриту у щурів / Ф.В. Гладких, Н.Г. Степанюк // *Вісник наукових досліджень*. – 2015. – №2(79). – С. 108–111.
- Multi-targeted natural products evaluation based on biological activity prediction with PASS / A. Lagunin, D. Filimonov, V. Poroikov // *Curr. Pharm. Des.* – 2010. – Vol. 16. – №15. – P. 1703–1717.
- PASS-assisted exploration of new therapeutic potential of natural products / R.K. Goel, D. Singh, A. Lagunin, V. Poroikov // *Med. Chem. Res.* – 2011. – Vol. 20. – №9. – P. 1509–1514.
- Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації ; за ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 527 с.
- Улащик В.С. Действие низкочастотного ультразвука на ноцицептивную чувствительность у крыс / В.С. Улащик, Е.Н. Куклова, И.Л. Морозова // *Физиотерапия, бальнеология и реабилитация*. – 2012. – №5. – С. 3–8.
- Ядловський О.Є. Роль ванілоїдного компонента в антиноцицептивній дії диклофенаку / О.Є. Ядловський // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. – 2012. – №1. – С. 60–64.
- Rainsford K.D. *Ibuprofen: Pharmacology, Therapeutics and Side Effects* : monograph / K.D. Rainsford. – Heidelberg : Springer Basel, 2012 – 259 p.
- Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, П.С. Рыболовлев // *Доклады АН СССР*. – 1979. – №6. – С. 1513–1516.
- Eddy N.B. Synthetic analgesics. II. Dithienyl-butenyl and dithienylbutylamines / N.B. Eddy, D. Leinback // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 1953. – №107. – P. 385–393.
- Shih W.J. *Statistical design and analysis of clinical trials: principles and methods* / W.J. Shih, J. Aisner. – Boca Raton : CRC Press, 2016. – 244 p.
- Миронов Н.Ю. Ванілоїдні рецептори: структура, участь в регулюванні функцій організму, фармакологія, терапевтичний потенціал / Н.Ю. Миронов, В.В. Чурюканов // *Експериментальна і клінічна фармакологія*. – 2006. – Т. 69. – №5. – С. 55–69.
- Pain transduction: a pharmacologic perspective / D.M. Entire, D.R. Kirkpatrick, N.P. Dueck, et al. // *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* – 2016. – №23. – P. 1–12.

References

- Herndon, C. M., Hutchison, R. W., Berdine, H. J., Stacy, Z. A., Chen, J. T., Farnsworth, D. D., et al. (2008). Management of chronic nonmalignant pain with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Pharmacotherapy*, 28(6), 788–805. doi: 10.1592/phco.28.6.788.
- Zupanec, I. A. (2013). Simtomaticheskaya pomoshch pri boli: vzglyad na problemu [Symptomatic assistance with pain, look at the problem]. *Farmaceut praktik*, 3, 24–25. [in Ukrainian].
- Smith, S. R., Deshpande B. R., Collins J. E., Katz J. N., & Losina E. (2016). Comparative pain reduction of oral non-steroidal anti-inflammatory drugs and opioids for knee osteoarthritis: systematic analytic review. *Osteoarthritis Cartilage*, 24(6), 962–972. doi: 10.1016/j.joca.2016.01.135.
- Costa, B. R., Reichenbach, S., Keller, N., Nartey, L., Wandel, S., Juni, P., & Trelle, S. (2016). Effectiveness of non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of pain in knee and hip osteoarthritis: a network meta-analysis. *Lancet*, 21(387), 2093–2105. doi: 10.1016/s0140-6736(16)30002-2.
- Nefedov, O. O., & Mamchur, V. I. (2009). Farmakologichni aspekty vplyvu nesteroidnykh protyzapalnykh zasobiv ta klasychnykh spazmolitykiv na vistseralny bil v eksperymenti [Pharmacological aspects of the impact of NSAIDs and classic antispasmodics for visceral pain experiment]. *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*, 1(8), 15–19. [in Ukrainian].
- Chornoivan, N. H., Chornobroviy, V. N., Stepaniuk H. I., Shalaimai, A. S., & Stepaniuk, A. H. (2010). Vinboron – novyi vitchyzniani spazmolityk z gastroprotektornoiu diieiu [Vinboron – the new a domestic antispasmodic with the gastroprotective action]. *Suchasna gastroenterolohiia*, 3(53), 54–57. [in Ukrainian].
- Popov, O. S., Shebeko, S. K., Shevchenko, O. I., & Shalaimai, A. S. (2015). Eksperymentalne doslidzhennia protyzapalnykh vlastyivostei preparatu «Dyklokor» [Experimental study of anti-inflammatory properties of the drug «Dyklokor»]. *Klinichna farmatsiia*, 19(4), 35–39. [in Ukrainian].
- Podpletnyaya, E. A., Mazur, I. A., & Mamchur, V. I. (2008). Rol' kvercetina i tiotriazolina v povyshenii e'ffektivnosti NPVS pri asepticheskom vospalenii i visceral'noj boli u myshej [Role of quercetin and thiotriazoline in enhancing the effectiveness of NSAIDs in aseptic inflammation and visceral pain in mice]. *Zaporozhskij medicinskij zhurnal*, 2(1), 129–134. [in Ukrainian].

9. Kashuba, O. V. (2015). Pobichni reaktsii, sprychyneni zastosuvanniam nesteroidnykh protyzapalnykh preparativ – analhetykiv-antypiretykiv [Side effects caused by the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs – analgesic-antipyretics]. *Ukrainskyi medychnyi chasopys*, 2(107), 74–76. [in Ukrainian].
10. Stepaniuk, N. H., Hladkykh, F. V., & Basarab, O. V. (2015). Analiz pobichnykh reaktsii na tli zastosuvannia analhetykiv-antypiretykiv ta nesteroidnykh protyzapalnykh zasobiv, yakii pryznachalys likariamy zakladiv okhorony zdorovia Podil'skoho rehionu u 2015 rotsi. *Galician Medical Journal*, 2(23), 92–98. [in Ukrainian].
11. Hladkykh, F. V., & Stepaniuk, N. H. (2015) Kharakterystyka protyzapalnoi ta znebolivuchoi aktyvnosti ibuprofenu ta yoho kombinatsii z vinboronom na modeli ad'iuvantnoho artrytu u shchuriv [Characteristics of the inflammatory and analgesic activity of ibuprofen and its combination with the model vinboronom adjuvant arthritis in rats]. *Visnyk naukovykh doslidzen*, 2(79), 108–111. [in Ukrainian].
12. Lagunin, A. A., Filimonov, D. A., & Poroikov, V. V. (2010). Multi-targeted natural products evaluation based on biological activity prediction with PASS. *Curr. Pharm. Des.*, 16(15), 1703–1717.
13. Goel, R. K., Singh, D., Lagunin, A. A., & Poroikov, V. V. (2011). PASS-assisted exploration of new therapeutic potential of natural products. *Med. Chem. Res.*, 20(9), 1509–1514. doi:10.1007/s00044-010-9398-y.
14. Stephanov, O. V. (Ed) (2001). *Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv [Preclinical studies of drugs]*. Kyiv: Avicena. [in Ukrainian].
15. Ulashchik, V. S., Kuklova, E. N., & Morozova, I. L. (2012). Dejstvie nizkochastotnogo ul'trazvuka na nociceptivnyu chustvitel'nost' u krys [The action of low-frequency ultrasound on nociceptive sensitivity in rats]. *Fizioterapiya, bal'neologiya i reabilitaciya*, 5, 3–8. [in Russian].
16. Yadlovskiy, O. Ye. (2012) Rol vaniloidnogo komponenta v antynotsytseptivnii dii dyklofenaku [The role of vanilloid component antinociceptive action of diclofenac]. *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*, 1, 60–64. [in Ukrainian].
17. Rainsford, K. D. (2012). *Ibuprofen: pharmacology, therapeutics and side effects*. Heidelberg: Springer Basel.
18. Rybolovlev, Yu. R., & Rybolovlev, R. S. (1979). Dozirovanie veshchestv dlya mlekoopitayushchikh po konstantam biologicheskoy aktivnosti [Dosing mammals substances constants of biological activity]. *Doklady Akademii nauk SSSR*, 6, 1513–1516. [in Russian].
19. Eddy, N. B., & Leinback, D. (1953) Synthetic analgesics. II. Dithienyl-butenyl and dithienylbutylamines. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 107, 385–393.
20. Shih, W. J., & Aisner, J. (2016). *Statistical design and analysis of clinical trials: principles and methods*. Boca Raton: CRC Press.
21. Mironov, N. Yu., & Churyukanov, V. V. (2006). Vaniloidnye receptory: struktura, uchastie v regulirovanii funktsii organizma, farmakologiya, terapevticheskij potencial [Vanilloid receptors: structure, regulatory functions, pharmacology, therapeutic potential]. *E'ksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*, 69(5), 55–69. [in Russian].
22. Entire, D. M., Kirkpatrick, D. R., Dueck, N. P., Kerfeld, M. J., Smith, T. A., Nelson, T. J., et al. (2016). Pain transduction: a pharmacologic perspective. *Expert Rev. Clin. Pharmacol.*, 23, 1–12. doi: 10.1080/17512433.2016.1183481.

Відомості про авторів:

Гладких Ф. В., здобувач каф. фармакології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, E-mail: fedir.hladkykh@gmail.com.

Степанюк Н. Г., д-р мед. наук, доцент каф. фармакології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова.

Сведения об авторах:

Гладких Ф. В., соискатель каф. фармакологии, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, E-mail: fedir.hladkykh@gmail.com.

Степанюк Н. Г., д-р мед. наук, доцент каф. фармакологии, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова.

Information about authors:

Hladkykh F. V., Doctor, Aspirant, Department of Pharmacology, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, E-mail: fedir.hladkykh@gmail.com.

Stepaniuk N. H., Dr. hab., Associate Professor, Department of Pharmacology, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya.

Надійшла в редакцію 18.07.2016 р.