



УКРАЇНА

(19) UA (11) 21342 (13) C2

(51) 7 A61K9/70, A61K31/4152, A61P29/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЗАСІБ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ РАДИКУЛІТІВ, МІОЗИТІВ, АРТРИТІВ, ІШІАСУ, ЛЮМБАГО, НЕВРАЛГІЇ, ТРАХЕІТІВ, БРОНХІТІВ ТА БРОНХОПНЕВМОНІЙ

(21) 97052212
 (22) 14.05.1997
 (24) 16.08.2003
 (46) 16.08.2003, Бюл. № 6, 2003 р.
 (72) Лисенко Ольга Костянтинівна, Лисенко Олександр Петрович, Сікерина Елеонора Георгіївна
 (73) Черноштан Костянтин Олександрович
 (56) US 4963361 16.10.1990;
 US 5478567 26.12.1995;
 Машковский М.Д. Лекарственные средства. М. "Медицина". - 1993. - т 1 - с. 405.
 (57) Средство для лечения радикулитов, миозитов, артритов, ишиаса, невралгий, трахеитов, бронхитов и бронхопневмоний, содержащее анальгетические, адгезивные и вспомогательные

вещества, отличающееся тем, что дополнительно в качестве активного компонента содержит анальгин при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Натуральный каучук	20,0-25,0
Агидол	0,5-1,0
Канифоль	14,0-18,0
Ланолин безводный	16,0-20,0
Вазелиновое масло	1,5-3,0
Мука	5,0-14,5
Окись цинка	2,0-6,0
Анальгин	15,0-22,0
Экстракт перца стручкового	5,0-10,0
Экстракт белладонны густой	0,5-1,0

Изобретение относится к медицине, а именно к лекарственным средствам и может быть использовано для лечения радикулитов, миозитов, артритов, ишиаса, люмбаго, невралгии, трахеитов, бронхитов и бронхопневмоний.

В настоящее время для лечения указанных заболеваний применяется ряд лекарственных препаратов как резорбтивного, так и местного действия. Среди наружных средств наиболее широкое распространение получили мази 5% бутадиеновая, диклофенаковая, ренерволь, Бом-Бенге, скипидарная; линименты: капсин, нафталгин, метилсалицилат сложный, перцово-камфорный, перцово-аммиачный, санитас, салимент; препараты пчелиного яда: аписартрон, виралин, форалин, аликозан, аликур, препараты, содержащие яды змей: випроксин, наяксин, вивералгин, випросал, випротокс, настойки: перца стручкового, капситрин; спирты - муравьиный и камфорный, горчичники, перцовый пластырь [1].

Механизм их отвлекающего действия обусловлен раздражением рецепторов кожи и подкожной клетчатки, а противовоспалительный эффект (мази) достигается в результате всасывания физиологически активных веществ в системный кровоток и проявления как местного, так и резорбтивного действия.

Перечисленные лекарственные средства в большинстве случаев не оптимальны с точки зрения выполняемых ими функций. Они не могут использоваться дозированно, не обеспечивают длительную и равномерную подачу лекарственных веществ в орган-мишень, имеют ряд побочных эффектов (вызывают аллергию, отеки и сильное раздражение кожи в местах нанесения, зуд), противопоказаны к применению при заболеваниях почек, печени, поджелудочной железы, диабете, сепсисе, новообразованиях, кахексии, беременности, заболеваниях надпочечников и кровеносной системы. Особенно это касается препаратов змеиного и пчелиного ядов [1].

В качестве прототипа для лечения радикулитов, миозитов, артритов, ишиаса, люмбаго, невралгий, трахеитов, бронхитов и бронхопневмоний как отвлекающее средство используется перцовый пластырь, имеющий следующий состав: экстракта перца стручкового густого - 0,8%, экстракта белладонны густого - 0,6%, настойки арники - 0,6%, каучука натурального - 22%, канифоли сосновой - 21%, ланолина безводного - 18%, масла вазелинового - 2% и др. составные части.

Недостатком перцового пластыря является отсутствие у него выраженного анальгезирующего, противовоспалительного и жаропонижающего

(19) UA (11) 21342 (13) C2

действия, а, стало быть, и оптимального лечебного эффекта.

В основу изобретения поставлена задача - создать высокоэффективное лекарственное средство (анальгиновый пластырь) для наружного применения в виде аппликаций на неповрежденную кожу для лечения вышеуказанных заболеваний, в котором посредством сочетания подобранных веществ и количественных их соотношений достигается терапевтический эффект, пролонгированная подача биогенного вещества в системный кровоток через кожу, минуя первоначально печень, ускоряются сроки выздоровления больных, устраняется побочное действие лекарств, применяемых ныне как орально, так и наружно, получить трансдермальную терапевтическую систему, содержащую анальгин и обладающую выраженным обезболивающим, противовоспалительным и жаропонижающим действием.

Поставленная задача достигается тем, что в состав созданного анальгинового пластыря входят вещества, обладающие анальгетическим, противовоспалительным и жаропонижающим действием, вещества-наполнители и вещества обеспечивающие адгезию к коже при следующем соотношении компонентов

Натуральный каучук	20 - 25%;
Агидол	0,50 - 1,0%;
Канифоль	14,0 - 18,0%;
Ланолин безводный	18,0 - 20,0%;
Вазелиновое масло	1,5 - 3,0%;
Мука	5,0 - 14,5%;
Оксид цинка	2,0 - 6,0%;
Анальгин	15,0 - 22,0%;
Экстракт перца стручкового	5,0 - 10,0%;
Экстракт белладонны густой	0,5 - 1,0%.

Главным отличием от известного средства является то, что в качестве основного физиологически активного вещества, обеспечивающего анальгезирующий, противовоспалительный и жаропонижающий эффект, взят анальгин. Наполнителями являются мука, оксид цинка. Мягчителя - ланолин безводный и вазелиновое масло. Адгезионные свойства анальгиновому пластырю придают натуральный каучук, канифоль.

В качестве антиокислителя использовали агидол.

Соотношение между компонентами анальгинового пластыря в указанных пределах обеспечивает комплексное местное и резорбтивное воздействие на пораженные ткани и высокий терапевтический эффект.

Анальгиновый пластырь получают следующим образом:

В смеситель с двумя з-образными мешалками загружают натуральный каучук и раствор (нефрас С₂ - 80/120). Ведут перемешивание 5 - 6 часов и затем вводят лекарственное средство (анальгин), муку, экстракты перца и белладонны, наполнитель (оксид цинка), мягчителя (ланолин и вазелиновое масло), пластификатор (канифоль).

Перемешивание осуществляют в течение 4,5 - 5 часов при температуре $45 \pm 5^\circ\text{C}$, до получения однородной массы.

Анальгиновый пластырь представляет собой полосу ткани с равномерным слоем пластырной

массы желто-бурого цвета, в количестве 230 на 1м² подложки. Липкая сторона пластыря имеет защитное покрытие. Пластырь выпускают следующих размеров, (4 x 10)см; (6 x 10)см; (10 x 18)см; (12 x 18)см. Перед применением пластыря защитное покрытие удаляется и производится аппликация на кожу соответствующих проекций болезненных отделов дыхательной системы, а также на область суставов, мышц и поврежденных нервов. Время нахождения пластыря на коже составляет 1 - 2сут. При необходимости процедура может повторяться.

К применению анальгинового пластыря в качестве лекарственного средства мы пришли в результате изучения острой и хронической токсичности, аллергенных свойств, анальгезирующего, противовоспалительного и жаропонижающего действия в сравнении с перцовым пластырем и анальгином при внутрижелудочном введении, а также исследований фармакокинетики.

При этом было установлено, что анальгиновый пластырь обладает анальгезирующим, противовоспалительным и жаропонижающим действием с отсутствием у последнего токсического и аллергенного эффектов.

Анальгезирующее действие анальгинового пластыря изучали на крысах линии Вистар и белых мышах по изменению порога болевой чувствительности у подопытных животных при различных видах болевого раздражения; теплового, механического и химического.

При контактно-тепловом раздражении использовали методику [2] суть которой заключается в том, что, при помещении животных на стеклянную пластинку с температурой 52°C , сначала определяли исходный порог болевой чувствительности (по облизыванию задних лапок), затем этот же порог учитывали через 2, 3, 4, 5 и 24ч после нанесения анальгинового пластыря на кожу.

При механическом воздействии порог болевой чувствительности определяли методом [3], в основу которого положен принцип механического сдавливания конечности. Степень давления (относительные единицы) регистрировали с помощью алгизметра по реакции в виде писка и одновременного освобождения лапки из-под давящего груза.

В наших опытах на одной из задних лап крыс с помощью субплантарного введения 0,5% раствора серотонина (0,1мл) вызывали асептическое воспаление и определяли порог болевой чувствительности воспаленной и интактной лап. Апплицировали анальгиновый пластырь и оценивали антиноцицептивную эффективность через 1ч, 4ч и 6ч.

В качестве химического фактора раздражения использовали 3% уксусную кислоту из расчета 300мг/кг при внутрибрюшинном введении мышам массой 18 - 20г. Последний приводил к появлению у подопытных животных непроизвольных сокращений брюшных мышц - "корчей" в течение 21мин с момента инъекции.

Аппликация анальгинового и перцового пластыря (контроль) производилась за 3ч до вызывания "корчей", а внутрижелудочное введение анальгина 330мг/кг (условно терапевтическая до-

за) для сравнения обезболивающего эффекта с анальгиновым пластырем производилось за 1ч.

Противовоспалительное действие анальгинового пластыря изучали на модели острого экссудативного воспаления, вызванного у крыс массой 170 - 180г субплантарным введением 0,1мл 0,5% раствора гистамина и 3% раствора формалина. Известно, что гистамин приводит к быстрому нарастанию отека, а формалин - к медленному нарастанию, но длительно удерживающемуся отеку. Эффект действия анальгинового пластыря оценивали в динамике плетизмометрически [4].

Использование модели "карманной" гранулемы по Селье в модификации В.В. Розена [5] способствовало изучению анальгинового пластыря на течение воспаления при котором преобладают пролиферативные процессы. Воспаление вызывали у крыс массой 190 - 200г путем введения в межлопаточную область спины 20см³ воздуха и инъекций в воздушный мешок 0,5мл 50% масляного раствора скипидара. Анальгиновый пластырь апплицировали в области спинно-боковой поверхности на 2-й день после вызванного воспаления на протяжении 14сут. Животных исследовали на 7-е и 14-сут. Для этого крыс умерщвляли, гранулемный мешок отсепаровывали, взвешивали во влажном состоянии, затем высушивали до постоянной массы при температуре 60°C и вновь взвешивали. Содержание лейкоцитов определяли в экссудате, а оксипролина в 100мг влажной грануляционно-фиброзной ткани, как показателя количества белков в пролиферирующей ткани по методике [6].

Жаропонижающее действие исследовали на крысах массой 180 - 190г при гипертермии, вызванной подкожным введением 20% суспензии пекарских дрожжей (1мл на 100г массы тела) за 18ч до аппликации анальгинового пластыря и перорального введения анальгина.

Изучение фармакодинамики анальгинового пластыря.

Оценка анальгетической активности анальгинового пластыря при тепловом, механическом и химическом факторах раздражения

В опытах на мышах в результате контактно-теплого раздражения анализирующий эффект при аппликации на кожу анальгинового пластыря начинался со 2-го ч и продолжался в течение последующих 3-го, 4-го и 5-го ч, выразившийся в достоверном повышении порога болевой чувствительности в сравнении с исходным уровнем соответственно на 21,8%, 48,9%, 71,7% и 84 % (табл. 1). Под воздействием перцового пластыря порог болевой чувствительности у животных на эти же сроки исследования был на 13,1%, 30,3%, 31,1% и 59,9% ниже, чем при нанесении анальгинового пластыря. Анальгин, введенный мышам внутривентрикулярно в виде 2% раствора (330мг/кг), незначительно превосходил по анальгезирующему эффекту анальгиновый пластырь на 2-м, 3-м и 4-м ч, достоверно уступая последнему на 5-м и 24-м часах (табл. 1).

Необходимо отметить, что через 1сут анальгезирующий эффект оставался только у животных с аппликацией анальгинового пластыря.

В опытах при механическом сдавливании вос-

паленной лапки контрольных крыс на 1-м, 4-м и 6-м ч отмечалось достоверное понижение порога болевой чувствительности соответственно на 46,7%, 57,5% и 55,9% на фоне порога болевой чувствительности интактной лапки (табл. 2). Аппликация животным анальгинового и перцового пластырей, а также пероральное введение 10% раствора анальгина (330мг/кг) способствовали уже на 1-м ч небольшому повышению порога болевой чувствительности соответственно на 15,7%, 6,1% и 18% в сравнении с контролем, однако по отношению к исходной величине этот порог оставался сниженным. Таким образом, ни одно из исследуемых средств на 1-м ч не обезболивало воспаленную лапку подопытных крыс.

На 4-м и 6-м ч анальгезирующий эффект обнаруживался у животных с аппликацией анальгинового пластыря и пероральным введением анальгина. При этом порог болевой чувствительности у крыс с анальгиновым пластырем на 4-м и 6-м ч достоверно понижался на 22,8% и 19,1%, а при действии анальгина на 19,2% и 21,8% в сравнении с порогом болевой чувствительности интактной лапки, и был соответственно выше, чем в контроле 34,7% и 36,8%; 38,3% и 34,1%. Перцовый пластырь способствовал повышению порога болевой чувствительности у крыс в эти же сроки исследования в сравнении с контролем, однако последний оставался ниже, чем при нанесении анальгинового пластыря и введении анальгина (табл. 2).

Изучение анальгезирующего действия анальгинового пластыря на модели "корчей", вызванных у мышей, показало, что последний, как и анальгин в виде 2% раствора (330мг/кг), введенный внутривентрикулярно, достоверно снижал количество непроизвольных сокращений брюшных мышц, соответственно на 27% и 37,2% в сравнении с контролем. Аппликация перцового пластыря приводила к увеличению количества "корчей" на 25,3% (табл. 3).

В этом тесте наблюдается небольшое преимущество анальгезирующего действия анальгина над анальгиновым пластырем, судя по количеству возникших у животных "корчей".

Влияние анальгинового пластыря на экссудативную фазу воспаления

Противовоспалительное действие анальгинового пластыря изучали в сравнении с перцовым пластырем и анальгином на модели гистаминового и формалинового отеков в течение 4-х и 24-х ч соответственно. Анальгиновый и перцовый пластыри апплицировали на кожу крыс, а анальгин в виде 10% раствора вводили перорально сразу же после субплантарного введения флогистиков.

Полученные данные (табл. 4) свидетельствуют, что анальгиновый пластырь и анальгин ингибировали развитие воспалительного процесса начиная со 2-го ч и последующие 3-й и 4-й ч в сравнении с контролем. Причем, в первые 2 ч активность анальгина проявлялась сильнее, чем анальгинового пластыря, а в последующие 3-й и 4-й ч в одинаковой степени. Это видно из того, что на эти сроки исследования объем лапки крыс в сравнении с исходным объемом в результате воздействия анальгинового пластыря увеличился соответственно на 36,1% и 31,9%, а при действии

анальгина на 37,1% и 30,0%.

Перцовый пластырь не оказывал влияния на процессы, способствующие снижению отека лапки крыс. Объем отека лапки крыс в этом случае примерно соответствовал объему лапки контрольных крыс во все сроки исследования (табл. 4).

Противовоспалительная активность анальгинового пластыря прослеживалась и при воспалении, вызванном формалином. Как и при гистаминовом отеке, анальгин на 2-м ч сильнее ингибировал развитие отека, чем анальгиновый пластырь, на 4-м ч примерно идентично, а через 1 сут увеличение отека у крыс, которым только 1 раз вводили анальгин, было на 15% больше, чем у крыс с аппликацией анальгинового пластыря.

Из этого следует, что через 1 сут анальгиновый пластырь продолжал тормозить развитие воспалительного процесса на фоне контроля, чего не наблюдалось у крыс, которым вводился анальгин.

Перцовый пластырь в этой серии опытов тормозил развитие отека на 1-м ч и не влиял на его дальнейшее течение в последующие часы исследования, судя по тому, что величина отека была такой же, как и в контроле.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что при двух видах отека, механизм развития которых отличается друг от друга, анальгиновый пластырь ингибировал развитие экссудативной фазы воспаления. Терапевтический эффект при этом начинался через 2 - 3 ч после его аппликации на кожу животных и продолжался в течение 24 ч (формалиновый отек), т.е. наблюдалось пролонгированное антифлогистическое действие. Противовоспалительная активность анальгина, введенного перорально, начиналась раньше, чем у анальгинового пластыря, и была сильнее выражена на первых часах развития воспаления. Затем постепенно ослабевала.

Перцовый пластырь при этих видах отека практически не обладал противовоспалительным действием.

Влияние анальгинового пластыря на пролиферативные процессы в очаге воспаления

Анализируя данные по изучению влияния анальгинового пластыря на развитие асептического воспаления у крыс, необходимо отметить, что они подтверждают противовоспалительный эффект анальгинового пластыря, полученный в эксперименте с изучением антиэкссудативных свойств на модели гистаминового и формалинового отеков

На модели "карманной" гранулемы анальгиновый пластырь не только ингибировал экссудативные процессы в очаге воспаления, но и угнетал образование грануляционно-фиброзной ткани. Об этом можно судить по достоверному уменьшению на 7-е и 14-е сут массы влажной и сухой гранулемы соответственно на 18,5% и 21,6%; 25,4% и 30,0% в сравнении с контролем, а также по снижению количества лейкоцитов в экссудате на 20,6% и 21,3% в те же сроки (табл. 6).

Перцовый пластырь, хотя и купировал процессы воспалительной реакции, судя по уменьшению массы гранулемы (влажной и сухой) и снижению лейкоцитов в экссудате, однако его эффект

оказался незначительным.

Антипролиферативную активность анальгинового и перцового пластырей оценивали по содержанию оксипролина в грануляционно-фиброзной ткани, образующейся при воспроизведении "карманной" гранулемы.

Данные, представленные в табл. 7, свидетельствуют, что уровень оксипролина в период развития воспалительного процесса (7-е сут) под воздействием анальгинового и перцового пластырей был ниже, чем в контроле. Однако же достоверное его снижение (22,7%) наблюдалось в период инволюции воспалительного процесса (14-е сут) и только под влиянием анальгинового пластыря.

Таким образом, проведенные исследования по изучению влияния анальгинового пластыря на пролиферативные процессы в очаге воспаления показали, что последний тормозил образование грануляционной ткани в очаге асептического воспаления. Данный эффект можно объяснить способностью анальгинового пластыря подавлять экссудативные процессы в очаге воспаления, вследствие чего в очаг проникает сравнительно небольшое количество лейкоцитов, что приводит к ухудшению условий для пролиферации соединительнотканых элементов и продукции ими белковых и липидных структур. Кроме того, непосредственная антипролиферативная активность анальгинового пластыря может быть связана с ингибированием биосинтеза коллагеновых и неколлагеновых белков. Не исключается стимулирующая роль анальгинового пластыря в рассасывании образовавшихся грануляций.

Жаропонижающее действие анальгинового пластыря

Данные, представленные в табл. 8 свидетельствуют, что подкожная инъекция суспензии пекарских дрожжей вызвала через 18 ч максимальное повышение температуры тела крыс в среднем на 1,9 - 2,0°C.

На этом фоне через 3 ч после аппликации анальгинового и перцового пластырей и перорального введения анальгина в виде 10% раствора отмечалось снижение температуры у крыс соответственно на 1,3°C, 0,5°C и 1,4°C. У контрольных животных гипертермия удерживалась на протяжении исследуемого времени.

Таким образом, анальгиновый пластырь и анальгин на фоне гипертермии, вызванной у крыс, примерно в одинаковой степени нормализовали температуру. Этот эффект отсутствовал у перцового пластыря.

Изучение фармакокинетики анальгина, поступающего из анальгинового пластыря при аппликации на кожу и при внутривенном введении анальгина

Учитывая быстрый метаболизм анальгина, некоторые авторы для анализа анальгина в биологических жидкостях использовали спектрофотометрический метод с предварительной экстракцией [7, 8], который определяет сумму анальгина и его возможных метаболитов. Это позволяет оценить общее количество всосавшегося лекарственного вещества при различных способах введения. Однако в последнее время для опреде-

ления анальгина используется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии [7, 9, 10, 11], который мы взяли на вооружение в своей работе

Для оценки эффективности всасывания анальгина из анальгинового пластыря мы изучили фармакокинетику анальгина при его внутривенном введении и рассчитывали величину абсолютной биодоступности, которую принято считать за 100%. Кроме этого, изучение фармакокинетики анальгина при внутривенном введении дает истинные значения константы элиминации, которые крайне необходимы для расчета клиренса анальгина при использовании пластыря.

Фармакокинетику анальгина из анальгинового пластыря и при внутривенном введении изучали на кроликах обоего пола весом 2,0 - 3,2 кг. Анальгиновый пластырь наносили в дозе 200 мг/кг на предварительно выбритый за 24 ч участок кожи площадью 50 см². Такие условия были выбраны с целью получения достаточных для анализа концентраций анальгина в плазме животных. Внутривенно анальгин вводили в виде 10% водного раствора в дозе 100 мг/кг.

Для анализа содержания анальгина в плазме крови при аппликации анальгинового пластыря кровь (3 мл) брали в гепаринизированную пробирку из краевой вены уха кролика через 1, 2, 4, 6, 8, 12, 20, 24 и 30 ч после нанесения пластыря и через 3, 10, 20, 40, 60 и 120 мин после внутривенного введения раствора анальгина.

Так как метод количественного определения анальгина с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии включает две стадии: стадию выделения анальгина и его метаболитов и дальнейшее его количественное определение, нами был предварительно проведен экспериментальный поиск оптимального метода выделения анальгина и его возможно появляющихся метаболитов из плазмы животных.

Было показано, что использование применяющихся иногда для экстракции органических растворителей (бензол, бутанол, хлороформ) неэффективно, так как при этом анальгин и его метаболиты в различной степени могут экстрагироваться из плазмы крови.

Поэтому в работе мы остановились на методе осаждения белков, который позволяет выделять из плазмы как анальгин, так и его возможные метаболиты.

Известно, что метанол эффективно осаждает белки плазмы в соотношении 9 : 1. Так как анальгин и его метаболиты хорошо растворимы в водно-спиртовых смесях, то осаждение белков метанолом с дальнейшим центрифугированием приводит к проявлению в надосадочной жидкости анальгина и его метаболитов.

Методика определения анальгина и его метаболитов в плазме крови.

Отобранную в гепаринизированные пробирки кровь центрифугировали в течение 5 мин при 3000 об/мин. 1 мл плазмы переносили в центрифужную пробирку, туда добавляли 9 мл метанола. Смесь осторожно перемешивали стеклянной палочкой и центрифугировали в течение 25 мин при 3000 об/мин. Потом надосадочную жидкость пере-

носили через бумажный фильтр (желтая лента) в сосуд для выпаривания и водно-спиртовый раствор выпаривали досуха под вакуумом при температуре не более 40°C.

Сухой осадок растворяли в 0,25 мл подвижной фазы, раствор фильтровали через фторопластовый фильтр с размером пор 0,5 мкм и по 5 мкл профильтрованного раствора хроматографировали на жидкостном хроматографе "Милихром 4".

Условия хроматографирования.

В работе использовали аналитическую колонку размером 2,0 и 8,0 мм, заполненную сорбентом "Силасорб СВ", зернение 7 мкм, предколонку размером 2,0 и 8,0 мм, заполненную тем же сорбентом. В качестве подвижной фазы использовали 12% ацетонитрил в растворе трифторуксусной кислоты с pH = 2,2. Скорость подачи элюента - 75 мкл/мин. Длина волны детектирования 210 нм.

Типичная хроматограмма плазмы, содержащей анальгин, представлена на фиг. 1.

Чувствительность метода 0,1 мкг/мл.

Количественное содержание анальгина определяли по калибровочному графику.

Математическую обработку проводили общепринятым в фармакологии способом.

Расчет фармакокинетических параметров проводили графическим методом на основе экспоненциального уравнения для внутривенного введения (одночленная модель) [13]

$$C_t = C_0 \cdot e^{-Kel \cdot t},$$

где C_t - концентрация препарата через определенное время после введения препарата (t),

C_0 - кажущаяся исходная концентрация, получаемая экстраполяцией зависимости $\lg C_t = f(t)$ к $t = 0$,

Kel - константа скорости элиминации,

t - время процесса (мин).

По найденным значениям константы элиминации и концентрации препарата в тест ткани в нулевой момент времени рассчитывали остальные параметры фармакокинетики: кажущийся объем распределения (V), общий клиренс (CL), период полувыведения $T_{1/2}$ и площадь под фармакокинетической кривой (S) по следующим формулам.

$$V = (\text{доза}) / C_0,$$

$$CL = V \cdot Kel,$$

$$T_{1/2} = 0,693 / Kel,$$

$$S = C_0 / Kel.$$

При нанесении анальгинового пластыря фармакокинетические параметры рассчитывали также графическим способом на основе биоэкспоненциального уравнения

$$C_t = B_0 \cdot e^{-Kel \cdot t} - B_0 \cdot e^{-K_{01} \cdot t},$$

где коэффициент B_0 означает $C_0 \cdot K_{01} / (K_{01} - Kel)$,

где C_0 - кажущаяся исходная концентрация,

Kel - константа скорости элиминации вещества из плазмы крови,

K_{01} - константа скорости перехода изучаемого вещества из места введения в плазму крови. Соответствующие фармакокинетические параметры рассчитывали по формулам

$$V = \text{доза} \cdot K_{01} / B_0(K_{01} - Kel),$$

$$CL = V \cdot Kel,$$

$$S^{0-\infty} = (\text{доза}) / V \cdot Kel.$$

Результаты и обсуждения

Анальгин независимо от способа введения животным или людям сразу же подвергается интенсивной биотрансформации. В то же время, при введении анальгина в плазму крови *in vitro* биотрансформации не происходит. Эти данные, приведенные выше (фиг.1), подтверждают известный факт о биотрансформации анальгина в печени животного или человека.

При изучении фармакокинетики анальгина из пластыря мы получили хроматограммы, содержащие сигналы эндогенных субстратов плазмы крови животного, анальгина и его метаболитов. Эти данные представлены на фиг.2. В табл. 9, 10, 11 представлены экспериментальные данные о содержании анальгина и двух возможных его метаболитов в плазме крови кроликов.

На фиг.3 представлены фармакокинетические кривые для анальгина и двух его наблюдающихся в плазме метаболитов.

Фармакокинетическая кривая для анальгина характеризуется достаточно быстрым всасыванием анальгина в системный кровоток с $T_{max} = 4ч$ и медленным выведением его из организма животного. Учитывая достаточно сильный разброс экспериментальных данных, характерный для кожного способа введения, можно сказать, что фармакокинетическая кривая для анальгина с 3 по 20 час имеет форму плато. Причем на 24ч количество анальгина составляет лишь 30% от максимальной концентрации, а на 30ч наблюдаются лишь следовые количества.

В эксперименте с первого же часа на хроматограммах наблюдается рядом с пиком анальгина пик метаболита, который выходит чуть раньше (фиг.2). Более короткое время удерживания метаболита свидетельствует о большой полярности молекулы метаболита по сравнению с анальгином.

Как указывалось ранее, анальгин в организме животных и человека метаболизирует с образованием 4-х фармакологически активных метаболитов (фиг.4).

Можно предположить, что этот метаболит (метаболит 1) соответствует 4-ацетиламиноантипирину. На это указывает также тот факт, что менее полярные лекарственные вещества и метаболиты лучше распределяются по органам и тканям (липиды биомембран), чем полярные, дольше находятся в организме и медленнее элиминируются.

Так как при использовании пластыря всасывание анальгина происходит на фоне очень быстрого и значительного метаболизма и образующиеся при этом метаболиты фармакологически активны, то для оценки эффективности пластыря необходимо получить интегральную кинетическую кривую, учитывающую анальгин и два его метаболита. Такая кривая позволяет показать истинное количество проходящего через кожу в системный кровоток анальгина. Эта кривая представлена на фиг.5. Фактически эта кривая показывает уровень анальгина в плазме животного при использовании пластыря, который имел бы место, если бы анальгин при всасывании в организм животного не подвергался биотрансформации. Профиль суммар-

ной фармакокинетической кривой для анальгина и его метаболитов соответствует профилю для кривой анальгина. Различия состоят лишь в более высоком уровне концентраций всасывающегося лекарственного вещества.

Основные параметры фармакокинетики анальгина и его метаболитов представлены в табл. 12.

Наблюдаемое (фиг.5) со 2 по 20ч плато (поддержание на постоянном уровне концентраций анальгина и его метаболитов, т.е. стационарная концентрация) свидетельствует о том, что трансдермальная подача анальгина из анальгинового пластыря происходит с постоянной скоростью, а величина стационарной концентрации (2,06мкг/мл) лекарственного вещества в плазме крови определяется соотношением скорости подачи анальгина из анальгинового пластыря через кожу в системный кровоток и скоростью клиренса анальгина из крови в соответствии с уравнением стационарности:

$$I = C_{ss}S \cdot CL / S, \text{ где}$$

I - скорость трансдермальной подачи из анальгинового пластыря, самой медленной стадии, определяющей кинетику поступления лекарственного вещества в системный кровоток, мкг/(см²·час);

C_{ss} - стационарная концентрация лекарственного вещества в крови при трансдермальной подаче из анальгинового пластыря, мкг/мл;

CL - общий клиренс лекарственного вещества, определяемый по результатам его внутривенного введения, л/кг·час;

S - площадь аппликации анальгинового пластыря, см²/кг.

Экспериментально полученные данные для анальгина при внутривенном введении представлены на фиг.6, а в табл. 12 - основные фармакокинетические параметры анальгина при этом же способе введения, рассчитанные графическим способом на основе экспоненциального уравнения.

Нами было показано, что уже на 3мин после внутривенного введения анальгина на хроматограммах имеется значительный пик анальгина ($C = 2,6\text{мг/мл}$) и его метаболита (метаболит 2), а также еще какой-то пик, имеющий значительно большее время удерживания по сравнению с анальгином и метаболитом 2 (фиг.7).

На 20мин на хроматограмме рядом с анальгином появляется метаболит 1, присутствующий метаболит 2 и метаболит с большим временем удерживания. Такая же хроматограмма наблюдается и через 40мин после внутривенного введения анальгина. Она представлена на фиг.7.

Эксперименты по внутривенному введению анальгина показали, что после 2ч анальгин в плазме крови не наблюдался, а обнаруживались лишь следовые количества метаболита 2.

Таким образом, в соответствии с уравнением стационарности, рассчитанных фармакокинетических параметров для внутреннего введения анальгина и полученной экспериментально стационарной концентрации анальгина при использовании анальгинового пластыря, можно вычислить скорость трансдермальной подачи анальгина из пла-

стыря Она составила $4,12 \text{ мкг/см}^2 \cdot \text{час}$, т.е. новая изученная форма анальгина в виде пластыря обеспечивает постоянную трансдермальную подачу анальгина со скоростью $4,12 \text{ мкг/см}^2 \cdot \text{час}$ в течение около 20 ч

Итак, в результате изучения фармакокинетики анальгина при накожной аппликации пластыря установлено, что анальгин выходит из матрицы терапевтической системы и быстро всасывается через кожу в системный кровоток с последующей медленной элиминацией ($T_{1/2} = 13,86 \text{ ч}$) из организма животного (до 30 ч). Фармакокинетическая кривая со 2-го по 20 ч имеет форму плато. При внутривенном введении раствора анальгина и чрескожном его поступлении из пластыря в кровоток образуются метаболиты, которые так же, как и анальгин, элиминируют из организма. Рассчитанная скорость трансдермальной подачи анальгина в системный кровоток способна обеспечить его поддержание на стационарном уровне в организме

Суммируя вышеизложенное, можно констатировать, что вышеуказанное средство (анальгиновый пластырь) включает в свой состав ряд физиологически активных веществ, основным из которых является анальгин. Исходя из многочисленных полученных данных, при изучении влияния анальгинового пластыря на организм и системы животных можно заключить, что новое лекарственное средство оказывает анальгезирующее и противовоспалительное действие в очаге воспаления, снижает температуру при гипертермии

Литература

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства - М. Москва, 1997
2. Komlos E., Porzasz M., Knoll J. Morphine-prostigmin synergismus // Arch. Physiol. Acad. Sci. Hung. - 1950. - I - P. 77-83
3. Randall L. O., Selitto J. J. A method for measurement of analgesic activity of inflamed tissue // Arch. int. pharmacodyn. - 1966 - Vol. 159 №2 - P. 310-316
4. Мохорт Н. А., Рябуха Т. К. Новый метод измерения объема лапки крыс // Патол. физиология и эксперим. терапия - 1971 - №2 - С. 101-102
5. Розен В. Б. Методика воспроизведения стандартного асептического воспаления // Патол. физиология и эксперим. терапия - 1961 - №6 - С. 72-73
6. Leach A. A. Notes on a modification of the neuman logan method for the determination of the hydroxyproline // Biochem. J. - 1960 - Vol. 74, №1 - P. 70-73
7. Грешных Р. Д. Количественное определение анальгина йодометрическим методом // Фармация, - 1980 - Т. 29, №6 - С. 34-36
8. Verma K. K. et al // Farmaco Ed. Prat. J. - 1987 - Vol. 42, №7 - P. 185-192
9. Венчиков А. И., Венчиков В. Н. Основные приемы статистической обработки результатов наблюдений в области физиологии, - М. Медицина, 1974 - 150 с
10. Damm P. Determination of dipyrene and its 4 metabolites in plasma // Arzneim. - Forsch. - 1989 - Bd. 39, №11 - S. 1415-1417

11. Levy M., Flusser D., Zylber-Kats E. Granit Z. Plasma kinetics of dipyrene metabolites in rapid and slow acetylators // Eur. J. Clin. Pharmacol. - 1984 - Vol. 27 - P. 453-458

12. Balogh E. et al // Z. klin. Med. - 1989 - Bd. 44 - S. 212-215

13. Соловьев В. Н., Фирсов Ф. Ф., Филон В. А. Фармакокинетика - М. Медицина, 1980

Таблица 1

Влияние анальгинового пластыря на порог болевой чувствительности у мышей при экстазно-тепловом раздражении (М±m)

Группа животных	Порог болевой чувствительности, с					
	исходный	Через 2 ч	Через 3 ч	Через 4 ч	Через 5 ч	Через 24 ч
Контрольная (нтактная) n=7	9.1±0.50	9.8±0.55 P>0.05	10.2±0.59 P>0.05	10.6±0.66 P>0.05	9.3±0.61 P>0.1	8.6±0.72
С перцовым пластырем n=7	9.1±0.74	9.9±0.74 8.7% P>0.05 P>0.05	10.8±0.55 18.6% P<0.05 P<0.05	12.8±0.50 40.6% P<0.001 P<0.05	11.3±0.36 24.1% P<0.02 P<0.05	9.4±0.64 3.2% P>0.05 P>0.05
С анальгиновым пластырем n=7	9.2±0.44	11.2±0.66 21.8% P<0.02 P>0.05	13.7±0.56 48.9% P<0.002 P<0.05	15.8±0.59 71.7% P<0.001 P<0.05	17.0±1.19 84% P<0.001 P<0.05	11.5±1.39 73% P<0.05 P<0.05
С сальвеном n=7	9.6±0.49	12.8±0.47 33.3% P<0.02 P>0.05	14.9±0.52 55.2% P<0.002 P>0.05	16.8±0.47 75% P<0.05 P>0.05	17.7±0.77 47.7% P<0.05 P>0.05	10.5±0.41 9.3% P>0.05 P>0.05

Таблица 2

Влияние анальгинового пластыря на порог болевой чувствительности воспаленной лапки крыс при механическом факторе воздействия (М±m)

Группа животных	Порог болевой чувствительности, отн. ед.			
	Исходный лапки	Воспаленной лапки через		
		1 ч	4 ч	6 ч
Контрольная (нтактная) n=6	12.0±0.58	6.4±0.55 46.7% P<0.001	5.1±0.58 57.5% P<0.001	5.3±0.49 55.9% P<0.001
С перцовым пластырем n=6	11.1±0.58	6.6±0.44 40.6% P<0.001	6.9±0.45 37.9% P<0.001	7.1±0.33 36.1% P<0.001
С анальгиновым пластырем n=6	11.0±0.53	7.6±0.84 31.0% P<0.05 P>0.05	8.5±0.77 22.8% P>0.05 P<0.05	8.9±0.30 19.1% P>0.05 P<0.05
С сальвеном n=6	11.5±0.51	8.2±0.93 28.7% P<0.05 P<0.05	9.3±0.57 19.2% P>0.05 P<0.05	9.0±0.30 21.8% P>0.05 P<0.05

P - по отношению к исходному показателю

P - по отношению к контролю в те же сроки исследования

Таблица 3

Влияние аналгезиового пластыря на количество "жорчей" у мышей (М±m)

Группа животных	Количество опытов	Количество "жорчей" после введения уксусной кислоты
Контрольная (интактная)	10	31,5±2,22
С перцовым пластырем	10	39,5±1,49 P<0,01
С аналгезиовым пластырем	10	22,9±1,65 P<0,01
С аналгезином	10	19,8±1,71 P<0,05 P<0,005

P - по отношению к контролю

P₁ - по отношению к аналгезиовому пластырю

Таблица 4

Противовоспалительная активность аналгезиового пластыря на модели тестименового отека у крыс (М±m)

Группа животных	Объем лапки крысы (относит. ед.) и величина отека (%) к исходному через				
	Исходный	1ч	2ч	3ч	4ч
Контрольная (интактная), n=5	6,6±0,26	12,0±0,50*	11,8±0,35	11,2±0,40	10,4±0,41
С перцовым пластырем, n=5	6,4±0,62	12,2±0,68	11,3±0,71	10,8±0,66	9,7±0,90
С аналгезиовым пластырем, n=5	7,2±0,23	12,2±0,67	11,4±0,48	9,8±0,94	9,5±0,51
С аналгезином, n=5	7,0±0,26	11,6±0,44	10,4±0,40	9,6±0,31	9,1±0,29

*) - Числитель - относительные единицы, знаменатель - величина отека (%).

P - по отношению к контролю

Противовоспалительная активность аналгезиового пластыря на модели формалинового отека у крыс (М±m)

Группа животных	Объем лапки крысы (относит. ед.) и величина отека (%) к исходному через			
	Исходный	1ч	2ч	24ч
Контрольная (интактная), n=5	5,0±0,35	8,6±0,50*	9,0±0,52	9,5±0,45
С перцовым пластырем, n=5	5,2±0,13	7,9±0,69	9,0±0,81	9,9±0,74
С аналгезиовым пластырем, n=5	4,7±0,24	6,7±0,20	7,6±0,27	8,0±0,27
С аналгезином, n=5	4,9±0,27	6,4±0,24	7,5±0,60	9,1±0,71

*) - Числитель - относительные единицы, знаменатель - величина отека (%).

P - по отношению к контролю

Таблица 5

Влияние аналгезиового и перцового пластырей на образование грануляционного инфильтрата и содержание лейкоцитов в экссудате (М±m)

Серия опытов	Масса грануляционного инфильтрата, мг				Количество лейкоцитов в 1 мл	
	7 сут		14 сут			
	Влажной	Сухой	Влажной	Сухой	7 сут	14 сут
Контроль, n=5	3346±144,5	815,4±16,1	3624±70,2	460±18,1	18560±531,6	15780±261,5
Перцовый пластырь, n=5	2970±86 P>0,05	725,0±39,1 P>0,05	2300±130,3 P>0,05	412,4±22,0 P>0,05	16980±437,4 P>0,05	14760±365,5 P>0,05
Аналгезиовый пластырь, n=5	2730±80,0 P<0,05 P<0,05	640,0±21,2 P<0,05 P<0,05	1960±152,8 P<0,05 P>0,05	294,6±28,5 P<0,001 P<0,05	14740±450,0 P<0,001 P<0,05	13420±409,1 P<0,001 P<0,05

P - по отношению к контролю.

P₁ - по отношению к перцовому пластырю

Таблица 6

Влияние аналгезиового пластыря на содержание оксипролина в грануляционном инфильтрате (М±m)

Серия опытов	Количество оксипролина, мг/100 г сухой ткани			
	7 сут	% уменьшения	14 сут	% уменьшения
Контроль, n=5	2900±221,4	-	4100±306,5	-
Аналгезиовый пластырь, n=5	2570±194,6 P>0,05	11,4	3170±218,6 P<0,05	22,7
Перцовый пластырь, n=5	2262±169,3 P>0,05	7,8	3649±261,1 P>0,05	11,0

P - по отношению к контролю

Таблица 8

Влияние аналгетического пластыря на температуру
"дрожащей лихорадки" у крыс (Мини)

Группа животных	Температура тела крыс, °С		
	Исходная	Через 18 ч после инъекции дрожащей	Через 3 ч после аппликации пластырей и перорального введения аналгетина
Контрольная, n=5	38,1±0,13	40,1±0,25 P<0,001	39,9±0,19 P<0,01
С перцовыми пластырями, n=5	38,3±0,24	40,3±0,39 P<0,01	39,8±0,45 P<0,02 P ₁ >0,05
С аналгетиковыми пластырями, n=5	37,9±0,15	39,8±0,46 P<0,01	38,5±0,26 P>0,05 P ₁ <0,01
Аналгетин, n=5	38,1±0,21	40,0±0,47 P<0,01	38,6±0,31 P>0,05 P ₁ <0,01

P - по отношению к исходной

P₁ - по отношению к максимальной температуре тела крыс

Таблица 9

Содержание аналгетина в плазме крови кроликов при аппликации аналгетического
пластыря в дозе 200 мкг/50 см² (мкг/мл)

T, час	1	2	3	4	5	6	7	C	S ₀
1	0,32	0,87	0,34	0,93	0,28	0,76	1,06	0,65	0,12
2	0,46	1,12	0,54	1,22	0,43	0,85	1,07	0,81	0,16
4	0,88	1,67	1,29	1,96	0,94	1,26	1,98	1,45	0,18
6	0,54	1,82	1,02	1,97	0,62	0,82	1,84	1,23	0,23
8	0,38	1,62	0,61	1,88	0,82	0,92	1,68	1,13	0,22
12	0,31	1,58	0,67	1,74	0,52	1,23	1,64	1,10	0,20
20	0,22	1,33	0,31	1,27	0,26	1,07	0,80	0,75	0,18
24	0,05	0,87	0,08	0,65	0,12	0,76	0,70	0,46	0,13
30	0	0,02	0	0,03	0	0,02	0	0,01	0,005

Таблица 10

Содержание метаболита 1 в плазме крови кроликов при аппликации аналгетического
пластыря в дозе 200 мкг/50 см² (мкг/мл)

T, час	1	2	3	4	5	6	7	C	S ₀
1	0,11	0,95	0,38	0,12	0,82	0,85	0,20	0,50	0,14
2	1,15	0,24	1,09	0,32	0,95	0,88	0,27	0,70	0,15
4	0,98	0,22	1,10	0,27	0,91	0,84	0,20	0,64	0,15
6	0,72	0,19	0,88	0,21	0,88	0,32	0,24	0,49	0,12
8	0,74	0,22	0,69	0,41	0,74	0,42	0,28	0,50	0,08
12	0,71	0,18	0,68	0,35	0,66	0,20	0,10	0,41	0,10
20	0,35	0,11	0,61	0,24	0,32	0,12	0,08	0,26	0,07
24	0,26	0,05	0,31	0,11	0,28	0,18	0	0,17	0,05
30	0,01	0	0	0	0	0	0,01	0	-

Таблица 11

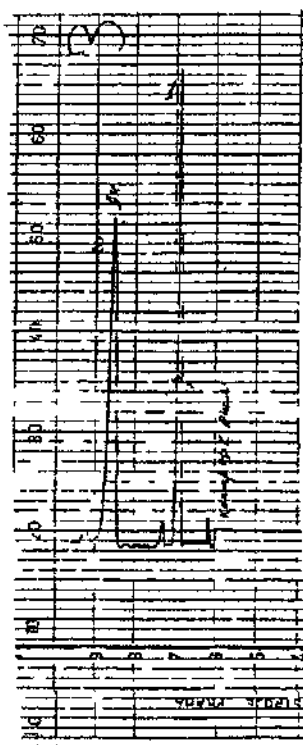
Содержание метаболита 2 в плазме крови кроликов при аппликации аналгетического
пластыря в дозе 200 мкг/50 см² (мкг/мл)

T, час	1	2	3	4	5	6	7	C	S ₀
1	0,56	0,14	0,46	0,24	0,52	0,46	0,22	0,37	0,06
2	0,61	0,18	0,38	0,22	0,40	0,45	0,12	0,34	0,07
4	0,66	0,22	0,57	0,18	0,71	0,60	0,12	0,43	0,08
6	0,54	0,28	0,61	0,23	0,49	0,22	0,12	0,35	0,09
8	0,98	0,46	1,01	0,34	1,11	0,97	0,36	0,75	0,12
12	0,76	0,24	0,88	0,29	0,82	0,77	0,31	0,58	0,10
20	0,65	0,22	0,85	0,16	0,78	0,71	0,23	0,51	0,11
24	0,52	0,15	0,64	0,14	0,52	0,48	0,22	0,38	0,11
30	0,37	0,10	0,42	0,07	0,32	0,15	0,11	0,22	0,05

Таблица 12

Основных фармакокинетических параметров аналгетина и его предположительных
метаболитов при аппликации аналгетического пластыря в дозе 200 мкг/50 см² и
внутривенном введении раствора аналгетина в дозе 100 мкг/кг

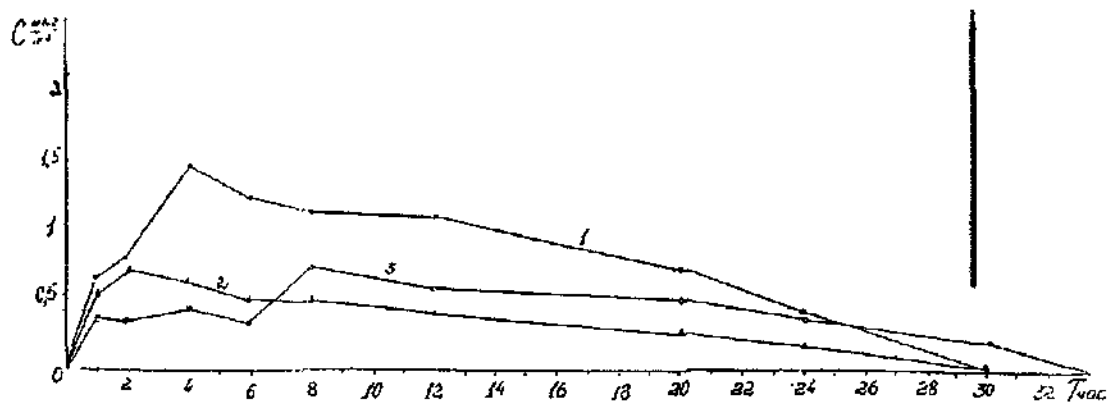
Параметр	Аналгетин пластырь	Аналгетин внутривенно	Метаболит 1	Метаболит 2	Метаболит 3
T _{max} , час	4		2	8	4
C _{max} , мкг/мл	1,45		0,70	0,75	2,50
Kel, 1/час	0,05	2,8	0,11	0,09	0,10
T _{1/2 α} , час	13,86	0,25	6,5	7,6	6,93
K ₀₁ , 1/час	0,23				0,16
T _{1/2 β} , час	3,01				4,3
V _d , л/кг	145,6	0,03			48,6
CL _T , л/кг час	7,28	0,1			4,9
S ₀ ¹⁰⁰ , мкг ч/мл	30,2	1033,5	8,74	6,86	45,8
B (C ₀), мкг/мл	1,93	2894,0			11,3



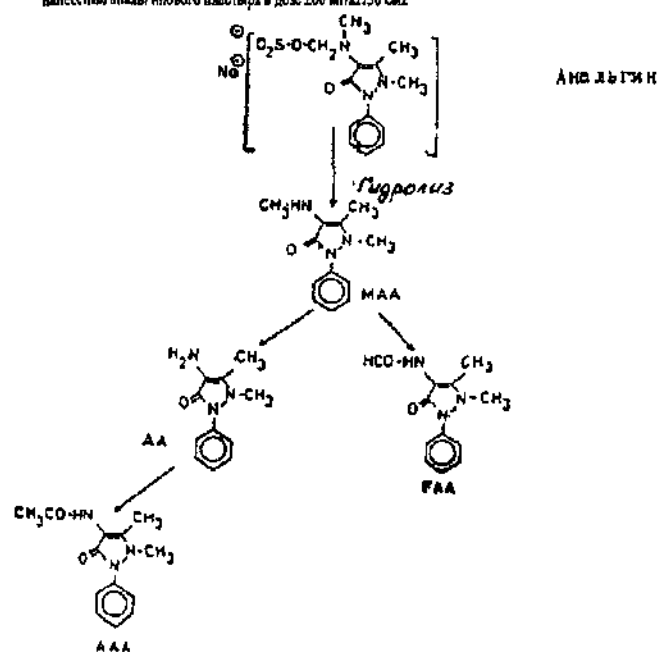
Фиг. 1 Хроматограмма анализа, выполненного и в виде пленки, и в виде кривой
1 исходные субстраты лактозы
2 аналиты



Фиг. 2 Хроматограмма анализа, выполненного в виде кривой, соответствующей 4 часам после введения лактозы
1 исходные субстраты лактозы
2 аналиты
3 метаболит 1
4 метаболит 2



Фиг. 1. Фармакокинетические кривые аналгина (1) и его метаболитов: метаболит 1 (2) и метаболит 2 (3) в плазме кроликов при нахождении животного в анальгезирующей дозе 200 мг/кг/50 см²



Фиг. А. Схема метаболизма динитро (аналгина):
 МАА - 4-метилметилнитропирин,
 АА - 4-аминметилнитропирин,
 ГАА - 4-формилметилнитропирин,
 ААА - 4-ацетилметилнитропирин

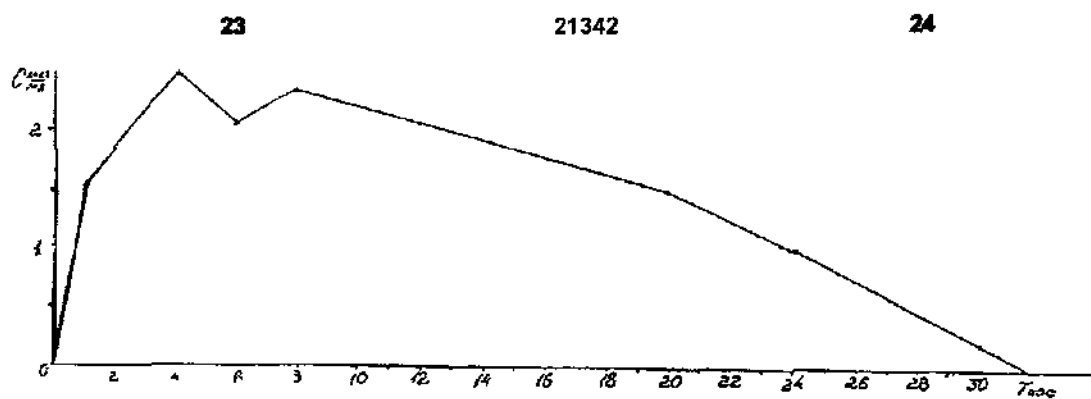


Рис. 5. Фармакокинетическая кривая суммы аналита и его метаболитов в плазме крови кроликов при подкожном нанесении аналитического пластыря в дозе 200 мг/кг/50 см²

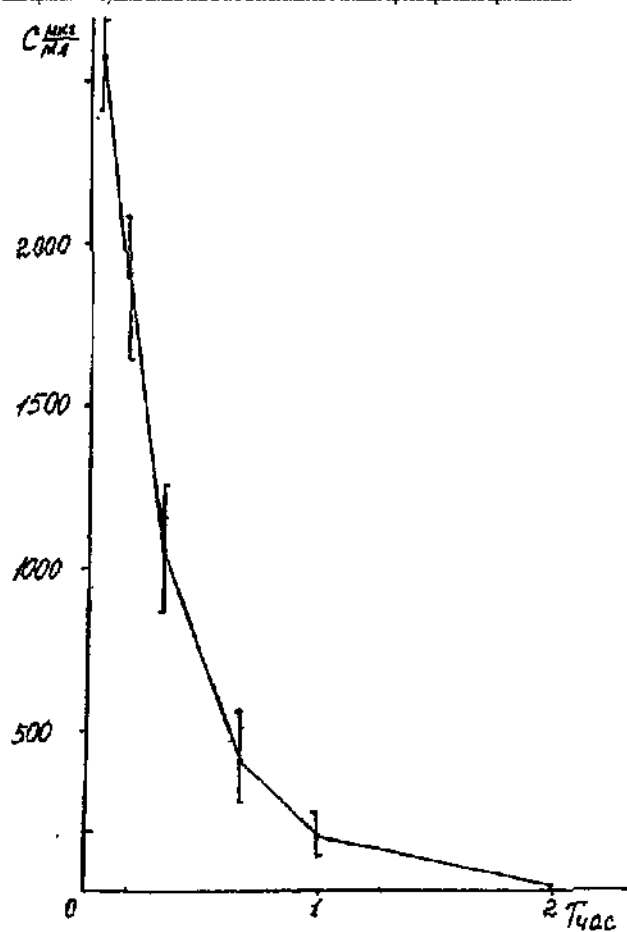


Рис. 6. Фармакокинетическая кривая аналита при внутривенном введении кроликам в дозе 100 мг/кг



Фиг.7. Хроматограмма аналгину и его метаболитов в плазме крови кроликов при внутривенном введении раствора аналгина, соответствующая 20 минуте
 1 - эндогенные субстраты плазмы,
 2 - аналгин,
 3 - метаболит 1,
 4 - метаболит 2

