

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОРИГИНАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ПИРОКСИКАМА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Илькевич Е.В.¹, Воронков А.В.¹, Степанова Э.Ф.¹, Поздняков Д.И.¹, Кулешова С.А.¹

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, Пятигорск, e-mail: 5865@bk.ru

Пироксикам – популярный препарат, широко применяемый в разных странах и используемый для лечения воспалительных и дегенеративных заболеваний опорно-двигательного аппарата. Разработана суспензия пироксикама и проведено исследование ее противовоспалительной активности, которую оценивали в условиях острой и хронической воспалительной (пролиферативной) реакции. В эксперименте были использованы крысы-самцы линии Wistar. Острое воспаление воспроизводили у крыс субплантарным (под подошвенный апоневроз) введением 0,1 мл 2%-ного раствора формалина. Для исследования хронического пролиферативного воспаления применили модель фетровой гранулемы. При хроническом воспалении определяли концентрацию С-реактивного белка (СРБ) и содержание лейкоцитов в крови. В качестве препарата сравнения использовали «Пироксикам капсулы» (ПРОМЕД, Россия). Препарат сравнения и изучаемая ЛФ пироксикама вводились интрагастрально через атравматический зонд. Группа животных негативного контроля (НК) не получала фармакологическую поддержку. Для суспензии пироксикама была проведена оценка ее жаропонижающих и анальгетических свойств. Результаты опытов обрабатывали методом вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 и Microsoft Excel 10-й версии. Проведенная фармакологическая оценка показала, что по величине противовоспалительной активности изучаемая 0,5%-ная суспензия пироксикама превосходила препарат сравнения «Пироксикам капсулы». Исследование проводилось в соответствии с международными нормами экспериментальной этики.

Ключевые слова: пироксикам, воспаление, пролиферация, экссудация, суспензия.

PHARMACOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE ORIGINAL PHARMACEUTICAL FORM OF PYROXYCAM

Ilkevich E.V.¹, Voronkov A.V.¹, Stepanova E.F.¹, Pozdnyakov D.I.¹, Kuleshova S.A.¹

¹Pyatigorsk Medical-Pharmaceutical Institute-Branch of the State Pedagogical University Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, e-mail: 5865@bk.ru

Piroxicam is a popular drug and is widely used in various countries. It is used to treat inflammatory and degenerative diseases of the musculoskeletal system. A suspension of piroxicam was developed and a study was conducted to evaluate its anti-inflammatory activity, assessed in conditions of acute and chronic (proliferative) inflammatory response. An experiment was conducted in male rats of the Wistar line. The acute inflammation in rats, was reproduced by subplantar injection (for plantar aponeurosis) of 0.1 ml of 2% formalin solution. For the study of chronic proliferative inflammation, a model of felt granuloma was used. Also, in chronic inflammation group, the concentration of C-reactive protein and the white blood cell count were determined. As comparator product was used: medicinal product Piroxicam capsules (PROMED, Russia). The comparator product and the studied drug dosage form of piroxicam were administered intragastrically via an atraumatic probe. Animals from the negative control group did not receive any pharmacological support. For a suspension of piroxicam, an assessment of its antipyretic and analgesic properties was carried out. The results of the experiments were processed using the variational statistics method, the STATISTICA 6.0 application package and Microsoft Excel 10th version. The pharmacological evaluation showed that the studied 0.5% suspension of piroxicam is superior to the comparator product "Piroxicam, capsules" by means of higher anti-inflammatory activity. The study was conducted in accordance with international standards of experimental ethics.

Keywords: patient, warfarin, atrial fibrillation, arrhythmia, international normalized relation (INR)

На фармацевтическом рынке России в мае 2018 г. импортные лекарственные препараты в натуральных единицах измерения составляли 40,5%, а в стоимостном выражении – 71% продаж [1, с. 5]. Средневзвешенная стоимость упаковки лекарства отечественного производства в мае 2018 г. составила 89,3 руб., а импортного – 320,7 руб. [1, с. 5].

Следовательно, расширение ассортимента лекарственных средств отечественного производства сделает лечение более доступным для населения в 3,5 раза.

По итогам 2017 г. на препараты для лечения заболеваний костно-мышечной системы (КМС) в коммерческом сегменте, который составляет 68% фармацевтического рынка, приходилось 109 млн упаковок натурального и 78,7 млрд руб. стоимостного объемов продаж [2, с. 11]. Таким образом, лекарственные препараты, направленные на лечение заболеваний костно-мышечной системы, являются одними из лидеров фармацевтического рынка, для которых характерен рост потребления. Актуальность данного направления на территории России видна и по статистике поисковых запросов на интернет-ресурсах Яндекс и Google в категории: «Заболевания. Проблемы со Здоровьем». Уровень интереса населения к таким проблемам, как боль и воспаление, достаточно высок, характеризуется большим количеством поисковых запросов. Динамика частотности данных запросов достаточно стабильна [3, 4].

Следует также отметить прогнозируемое различными организациями по всему миру дальнейшее увеличение числа людей с заболеваниями костно-мышечной системы в связи с увеличением среднего возраста населения [5, с. 628; 6, с. 2415], что также свидетельствует о возрастающей потребности в лекарственных препаратах этой группы.

Более 50% объема рынка препаратов для лечения заболеваний КМС как в натуральном, так и в стоимостном выражении занимают НПВП [3, с. 628; 7, с. 17]. На современном фармацевтическом рынке НПВП России преобладают дженерики. Оригинальные препараты занимают всего 1/4 сегмента. Десятка лидеров продаж НПВП представлена исключительно зарубежными производителями. Почти половина продаж ЛС изучаемого сегмента в денежном выражении приходится на препараты, производимые в странах Западной Европы, прежде всего, в Германии. Однако в натуральном выражении основной объем реализации приходится на препараты стран Азии, в частности Индии. Российские препараты обеспечивают всего 18,2% продаж в натуральном и 12,5% в стоимостном выражении [5, с. 628; 7, с. 17].

Для нашей разработки был выбран пироксикам, который показан для лечения воспалительных и дегенеративных заболеваний опорно-двигательного аппарата. Он является востребованным лекарственным средством и широко применяется в различных странах [6, с. 2415]. На сегодняшний день на российском фармацевтическом рынке широкого выбора этот препарат не имеет, что в какой-то мере может снижать его востребованность. Сравнительный анализ лекарственных форм свидетельствует об ограниченном применении жидких лекарственных форм, которые предпочтительнее для больных в некоторых возрастных группах [6, с. 2415]. В связи с этим нами была разработана суспензия пироксикама 0,5%-ная [8, с. 2036; 9, с. 155]. В качестве дисперсионной среды была взята вода очищенная.

Цель исследования. Анализ противовоспалительного, анальгетического и жаропонижающего действий суспензии пироксикама в эксперименте.

Материал и методы исследования. Исследование проводилось на 144 крысах – половозрелых самцах линии Wistar массой 220–240 г, полученных из вивария Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ, в соответствии с международными нормами экспериментальной этики. На каждом этапе оценки эффективности применения изучаемой суспензии пироксикама формировались равные экспериментальные группы по 6 особей в каждой. Дозы были выбраны с учетом межвидового коэффициента пересчета и составляли для капсул пироксикама 120 мг/кг. Суспензия пироксикама исследовалась в дозе из расчета 50 мг/кг. Препарат сравнения и изучаемая лекарственная форма пироксикама вводились интрагастрально через атравматический зонд. Группа животных негативного контроля (НК) не получала фармакологическую поддержку. Животным этой группы вводили 0,9%-ный натрия хлорид в эквивалентном количестве [10, с 1267].

Острое воспаление у крыс воспроизводили путем субплантарного введения 0,1 мл 2%-ного раствора формалина. Исследуемая суспензия пироксикама и препараты сравнения вводились интрагастрально за 1 ч до введения формалина. Выраженность воспалительной реакции (отечность конечности) оценивали онкометрически по истечении 3 ч. На первом этапе исследования проводили определение концентрации С-реактивного белка (СРБ) как одного из маркеров воспалительного процесса. СРБ определяли полуколичественным методом с использованием стандартного набора реактивов производства компании «Арбис+» (Санкт-Петербург, Россия). Принцип метода основан на реакции взаимодействия СРБ сыворотки крови с фиксированными на поверхности латекс-частиц специфическими антителами к СРБ с образованием агглютинатов [10, с. 1267].

Хроническое пролиферативное воспаление (ХПВ) оценивали с использованием модели фетровой гранулемы. Крыс вводили в состояние наркоза хлоралгидратом (350 мг/кг) и имплантировали им под кожу живота 4 стерильных фетровых диска массой 10 мг каждый. Операция выполнялась с соблюдением правил асептики. Исследуемую суспензию пироксикама и препараты сравнения вводили на протяжении 7 дней после воспроизведения ХПВ. На 8-е сутки определяли содержание лейкоцитов в крови с использованием системы ветеринарного автоматического гематологического анализатора ВС – 2400 vet (Minray, КНР). Принцип определения основан на методе импеданса, который заключается в определении количества и размера клеток в зависимости от изменения электрического сопротивления при прохождении частицы (клетки) через маленькую апертуру [10, с. 1267]. После определения содержания лейкоцитов в асептических условиях под хлоралгидратной анестезией (350 мг/кг)

у крыс извлекали фетровые диски с образовавшейся вокруг них грануляционной тканью и взвешивали. Затем диски высушивали до постоянной массы при 60⁰С и снова взвешивали. Пролиферацию оценивали по разнице между массами высушенной гранулемы и исходного фетрового диска. Экссудативную реакцию оценивали по разнице между массой сырой и высушенной гранулемы [10, с. 1267].

Анальгетические свойства изучаемой суспензии пироксикама оценивали на модели формалиновой гипералгезии у крыс. Экспериментальным животным субплантарно вводили 0,1 мл 2%-ного раствора формалина. Изменение порога болевой чувствительности оценивали по изменению максимального переносимого механического раздражения (давление на лапу животного – анальгезиметрия по типу Randall–Selitto) спустя 3 ч с момента введения альгогена. Критерием появления болевой реакции служила вокализация животного. Исследуемая суспензия и препараты сравнения вводились *per os* через 2 ч после введения формалина [10, с. 317].

Антипиретическую активность изучаемой суспензии пироксикама производили на модели дрожжевой лихорадки у крыс. Лихорадочную реакцию вызывали подкожным введением 20%-ной суспензии пекарских дрожжей. Ректальную температуру измеряли электротермометром до введения пирогена и далее ежечасно на протяжении суток. Исследуемая суспензия и препараты сравнения вводились на пике гипертермической реакции. Жаропонижающее действие оценивали по уменьшению ректальной температуры через 2 ч после введения изучаемой суспензии пироксикама и препаратов сравнения (дозы см. выше) [10, с. 1267].

Полученные в исследовании данные анализировали с использованием методов вариационной статистики и пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 и Microsoft Excel 10-й версии. Нормальность распределения полученных данных оценивали при помощи критерия Шапиро–Уилка. Поскольку распределение данных было нормальным, для сравнения средних значений использовали t-критерий Стьюдента [10, с. 1512].

Результаты исследования и их обсуждение. В ходе оценки противовоспалительной активности 0,5%-ной суспензии пироксикама на модели острой воспалительной реакции установлено, что субплантарное введение формалина вызывает у крыс выраженную отечность конечности, о чем свидетельствует повышение объема воды, вытесняемого при погружении в емкость лапы животных, не получавших фармакологическую поддержку, на 59,6% ($p < 0,05$) по сравнению с интактными крысами (рис. 1). Применение капсул пироксикама значимого влияния на течение острого воспалительного процесса не оказало (рис. 2) (статистически значимых отличий по сравнению с НК группой крыс не установлено), в то время как на фоне

введения изучаемой суспензии пироксикама величина отечности конечности крыс по сравнению с группой животных негативного контроля уменьшилась на 30,4% ($p < 0,05$).

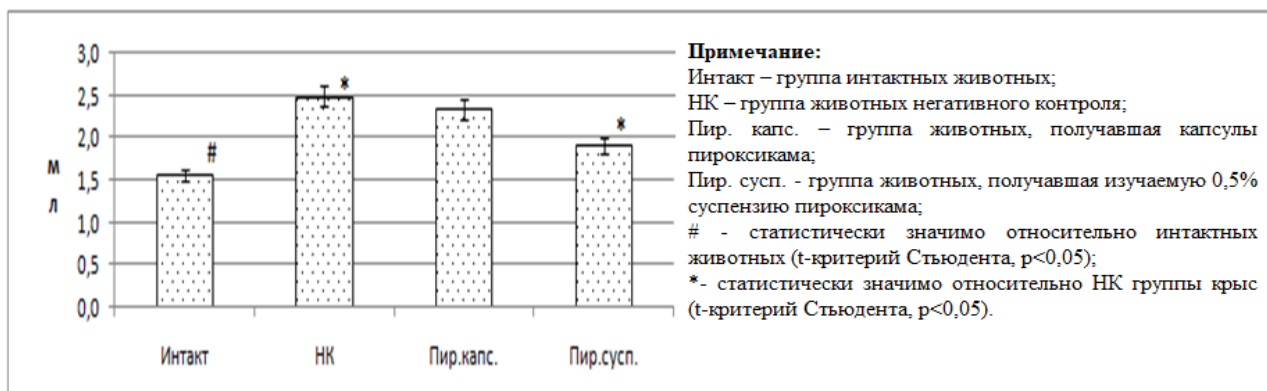


Рис. 1. Влияние исследуемой 0,5%-ной суспензии пироксикама и препарата сравнения на течение острой воспалительной реакции у крыс

В условиях хронического пролиферативного воспаления у крыс группы негативного контроля показатели экссудации и пролиферации составляли $0,758 \pm 0,146$ ед. и $0,278 \pm 0,033$ ед. соответственно, что статистически значимо относительно интактных животных (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони, $p < 0,05$).

При этом у НК группы животных концентрации С-реактивного белка (рис. 2) и лейкоцитов (рис. 3) в крови превышали аналогичные показатели интактных животных в 14,2 раза ($p < 0,05$) и 3,5 раза ($p < 0,05$) соответственно.

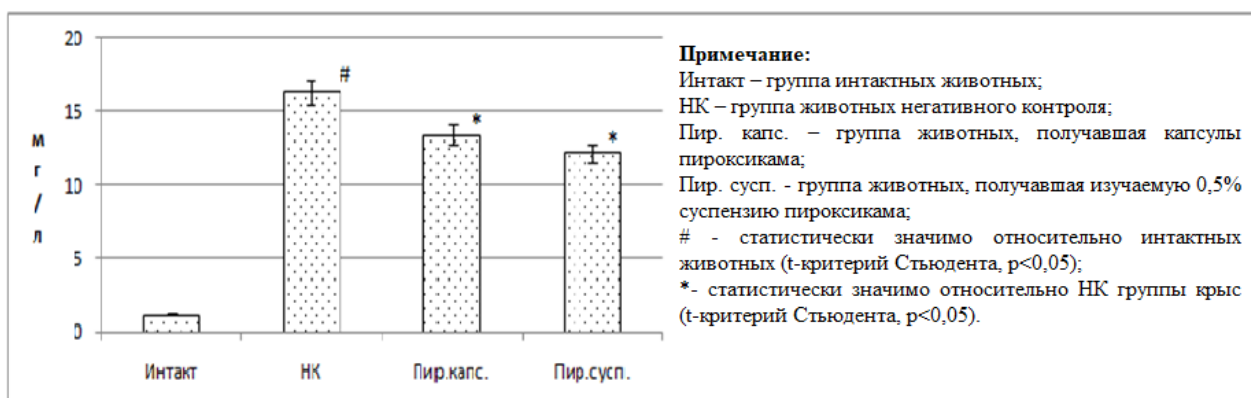


Рис. 2. Изменение концентрации СРБ в плазме крови крыс в условиях коррекции хронического воспалительного процесса изучаемой суспензией пироксикама и препаратами сравнения

Применение суспензии пироксикама на фоне хронического воспаления способствовало уменьшению выраженности экссудативного процесса на 77,9% и пролиферативного процесса в 2,4 раза по сравнению с НК группой крыс (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони,

$p < 0,05$). Показатели экссудации и пролиферации на фоне приема суспензии составляли $0,426 \pm 0,122$ ед. и $0,117 \pm 0,05$ ед.

Кроме того, у животных при введении суспензии пироксикама концентрация СРБ уменьшилась относительно НК группы крыс на 34% ($p < 0,05$), при этом содержание лейкоцитов в крови снизилось на 61,9% ($p < 0,05$).

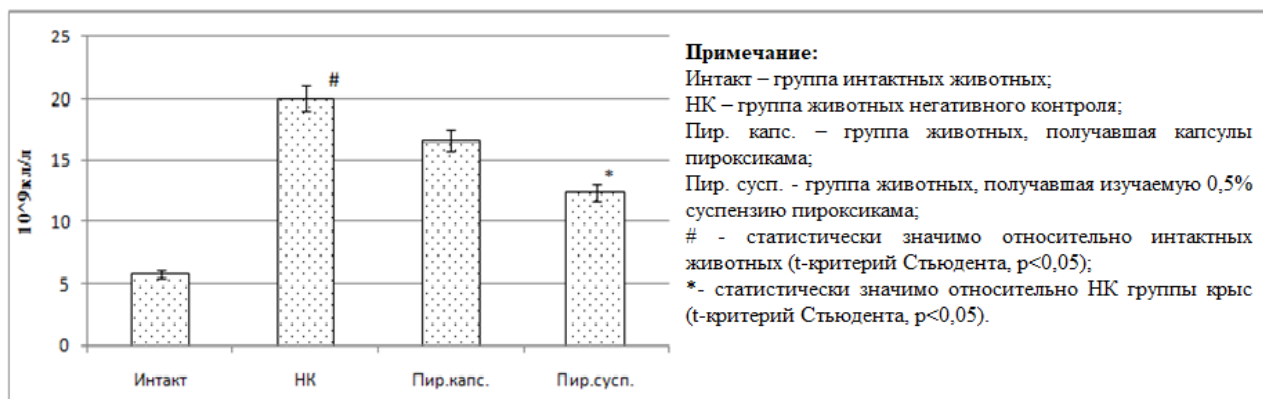


Рис. 3. Влияние изучаемой суспензии пироксикама и препаратов сравнения на выраженность лейкоцитоза в условиях хронического воспаления

Применение капсул пироксикама способствовало уменьшению показателя экссудации до $0,488 \pm 0,059$. Полученный результат статистически значим относительно НК группы крыс согласно t-критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони, $p < 0,05$. Пролиферация составила $0,278 \pm 0,033$ ед., однако по сравнению с НК группой крыс статистической значимости этого показателя не установлено. Концентрация С-реактивного белка на фоне применения капсул пироксикама по сравнению с НК группой животных снизилась на 21,8% ($p < 0,05$).

Исследование анальгетической активности разработанной суспензии пироксикама показало, что порог болевой чувствительности (рис. 4) у интактных крыс составлял $229,8 \pm 4,11$ г. У группы животных негативного контроля данный показатель был ниже на 174,7% ($p < 0,05$).

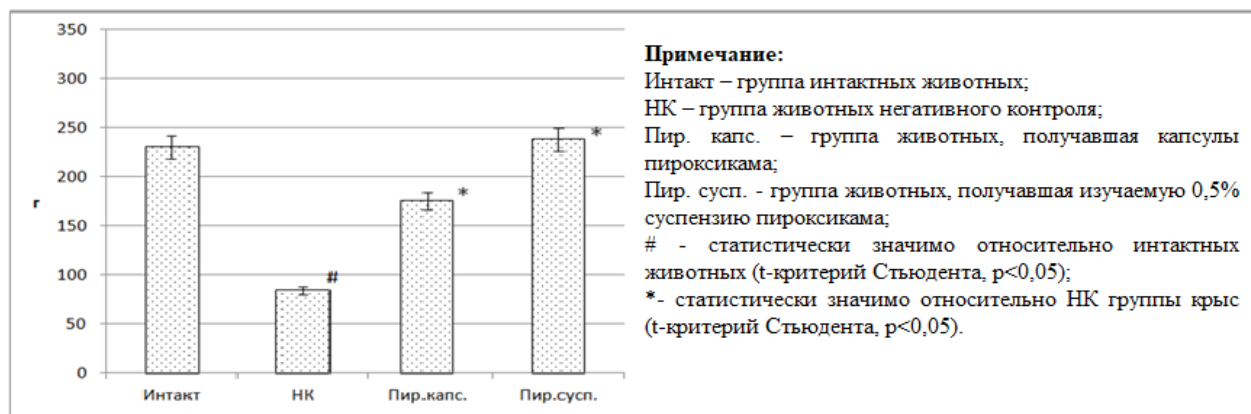


Рис. 4. Изменение порога болевой чувствительности при коррекции ноцицептивной реакции изучаемой суспензией пироксикама и препаратами сравнения

На фоне введения капсул пироксикама в условиях острой болевой реакции ноцицепция у крыс снизилась по сравнению с НК группой животных на 109,4% ($p < 0,05$). При применении исследуемой суспензии пироксикама отмечено уменьшение болевой реакции относительно группы животных негативного контроля на 184,2% ($p < 0,05$).

При исследовании жаропонижающей активности разработанной суспензии пироксикама было установлено, что температура тела (рис. 5) у группы интактных животных составляла $36,97 \pm 0,067^{\circ}\text{C}$.

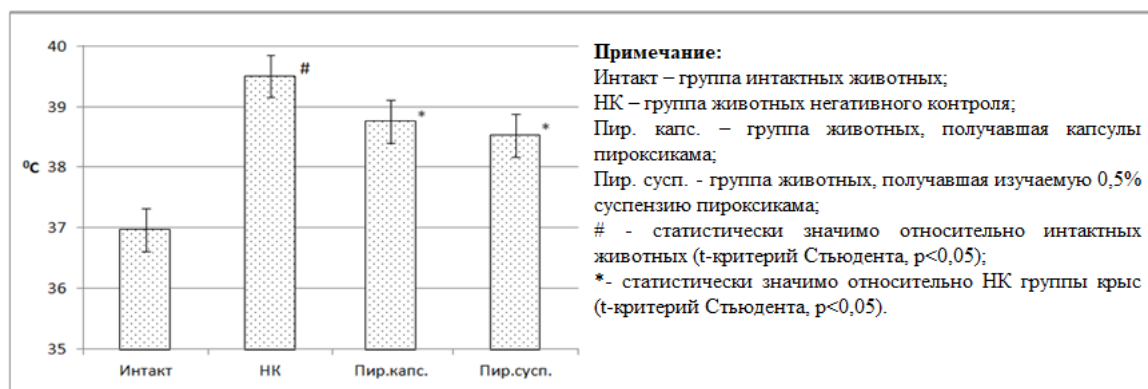


Рис. 5. Влияние изучаемой суспензии пироксикама и препаратов сравнения на изменение температуры тела крыс в условиях гиперпиретической реакции

При введении пиретического агента у группы животных негативного контроля пик подъема температуры отмечен спустя 3 ч от момента введения пирогена, температура тела при этом составила $39,5 \pm 0,11^{\circ}\text{C}$, таким образом, рост температуры тела у животных НК группы составил $+2,53^{\circ}\text{C}$ ($p < 0,05$). В то же время при коррекции гипертермии посредством введения капсул пироксикама и изучаемой суспензии пироксикама температура тела крыс составила $38,75 \pm 0,126^{\circ}\text{C}$ и $38,52 \pm 0,087^{\circ}\text{C}$, что было ниже аналогичного показателя групп животных негативного контроля на $0,75^{\circ}\text{C}$ ($p < 0,05$) и $0,98^{\circ}\text{C}$ ($p < 0,05$) соответственно.

Заключение. Проведенная сравнительная оценка суспензии пироксикама в отношении ее фармакологических свойств показала, что по величине противовоспалительной активности изучаемая 0,5%-ная суспензия пироксикама превосходит существующий, взятый в качестве сравнительного объекта, препарат «Пироксикам капсулы». Аналогичная тенденция изменений была отмечена и при оценке влияния изучаемой суспензии пироксикама на течение хронического воспалительного процесса, а также при исследовании анальгетических и жаропонижающих свойств 0,5%-ной суспензии пироксикама.

Список литературы

1. Фармацевтический рынок России. Годовой отчет 2017. DSM Group. М., 2019. 110 с. [Электронный ресурс]. URL: https://dsm.ru/docs/analytics/Annual_Report_2017_rus.pdf (дата обращения: 27.04.2021).
2. Фармацевтический рынок России. Годовой отчет 2018. DSM Group. М., 2019. 122 с. [Электронный ресурс] URL: https://dsm.ru/docs/analytics/Annual_report_2018_DSM.pdf (дата обращения: 27.04.2021).
3. Статистика ключевых слов на сервисе ООО «Яндекс» © 2008–2020. М., 2020. [Электронный ресурс]. URL: wordstat.yandex.ru/#!/history?words=inflammation (дата обращения: 29.04.2021).
4. GoogleTrends. Mountain View. 2020. URL: <https://trends.google.com/trends/?geo=US> (дата обращения: 29.04.2021).
5. Жураховская Д.В., Лоскутова Е.Е., Виноградова И.А. Маркетинговый анализ фармацевтического рынка нестероидных противовоспалительных препаратов на региональном уровне // Современные проблемы науки и образования. 2014. № 2. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=12853> (дата обращения: 29.04.2021).
6. Scarpignato C. Piroxicam- β -Cyclodextrin: A GI Safer Piroxicam. *Current Medicinal Chemistry*. 2013. Vol. 20 (19). P. 2415–2437. DOI: 10.2174/09298673113209990115.
7. Уварова Ю. Рынок нестероидных противовоспалительных препаратов // Ремедиум. 2010. № 9. С. 17-20.
8. Илькевич Е.В., Курегян А.Г., Степанова Э.Ф. Разработка состава и технологические исследования суспензии пироксикама // Фундаментальные исследования. 2014. № 9. С. 2036-2038.
9. Илькевич Е.В., Степанова Э.Ф., Степанова Н.Н., Глушко А.А. Суспензия пироксикама: выбор вспомогательных веществ, седиментационный анализ// Вестник Воронежского государственного университета. Сер.: Химия. Биология. Фармация. 2017. № 2. С. 155-159.
10. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2012. 1600 с.