

С. В. Аньков<sup>1</sup>, Т. Г. Толстикова<sup>1</sup>, А. А. Онищук<sup>2, 5</sup>, М. В. Хвостов<sup>1</sup>,  
И. В. Сорокина<sup>1</sup>, А. М. Бакланов<sup>2</sup>, В. М. Фомин<sup>3</sup>, В. В. Болдырев<sup>4, 5</sup>

## АНАЛЬГЕТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ НАНОАЭРОЗОЛЬНОЙ ФОРМЫ НЕКОТОРЫХ НЕСТЕРОИДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

<sup>1</sup> ФГБУН Новосибирский институт органической химии СО РАН, Россия, 630090, Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 9; e-mail: tolstiktg@nioch.nsc.ru.

<sup>2</sup> ФГБУН Институт химической кинетики и горения СО РАН, Россия, 630090, Новосибирск, ул. Институтская, 3; e-mail: onischuk@kinetics.nsc.ru.

<sup>3</sup> ФГБУН Институт теоретической и прикладной механики СО РАН, Россия, 630090, Новосибирск, ул. Институтская, 4/1; e-mail: fomin@itam.nsc.ru.

<sup>4</sup> ФГБУН Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, Россия, 630090, Новосибирск, ул. Кутателадзе, 18.

<sup>5</sup> Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Россия, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 2.

Изучена анальгетическая активность наноаэрозольной формы нестероидных противовоспалительных средств — индометацина, бутадиона и диклофенака. Установлено, что, в сравнении с традиционным способом введения данных препаратов, наноаэрозольный способ доставки имеет аналогичную анальгетическую активность через 5 – 8 мин после введения в дозе от 3 до 5 порядков ниже пероральной.

**Ключевые слова:** нестероидные противовоспалительные средства; наноаэрозольные формы; индометацин; бутадион; диклофенак.

Несмотря на несомненную клиническую эффективность, применение нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) имеет свои ограничения. Это связано прежде всего с тем, что даже кратковременный прием препаратов данной группы в небольших дозах может приводить к развитию побочных эффектов, которые в целом встречаются примерно в каждом четвертом случае, а у 5 % больных могут представлять серьезную угрозу для жизни [1].

Основным побочным действием практически всех НПВС является высокий риск развития нежелательных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта (язва, эрозивный гастрит, гепатотоксичность, смешанный цитолитический-холестатический гепатит и т.п.). В США смертность от НПВС-индуцированных поражений ЖКТ такая же, как от СПИДА, и выше, чем от меланомы, бронхиальной астмы, рака шейки матки или лимфогранулематоза [2].

Поэтому в последние годы особое внимание привлечено к проблеме разработки безопасных и эффективных лекарственных форм доставки НПВС.

Одной из таких форм, являющейся хорошей альтернативой для инвазивного и перорального пути доставки лекарственных веществ является аэрозольная (ингаляционная) форма. Авторами данного сообщения был предложен метод гомогенной нуклеации пересыщенным паром [6] для получения аэрозолей НПВС с высокой концентрацией и стабильностью наночастиц размером от 20 – 220 нм. В экспериментах на животных было показано, что полученные этим методом наноаэрозоли индометацина, диклофенака и ибупрофена натрия в субмалых дозах проявляют противовоспалительный эффект [3, 8], а ибупрофен оказывает также и анальгетическое действие [3 – 5].

В настоящем сообщении представлены результаты экспериментального исследования анальгетической активности наноаэрозоля индометацина, бутадиона, диклофенака натрия.

### Экспериментальная часть

Все опыты по изучению наноаэрозольных форм лекарственных препаратов проводили на половозрелых

Таблица 1  
Анальгетический эффект индометацина при ингаляционном способе введения на модели “уксусные корчи” у мышей

Эффект	Контроль	Индометацин, мг/кг			
		внутрижелудочно		ингаляционно	
		20	$1,5 \cdot 10^{-2}$	$5,9 \cdot 10^{-4}$	$1,9 \cdot 10^{-7}$
Количество корчей, абсолютные значения	$10,6 \pm 1,7$	$7,8 \pm 1,6$	$3,4 \pm 0,9^{*#}$	$5,9 \pm 0,7^{*}$	$13,5 \pm 1,8^{*#}$
Количество корчей, %	100	73	32	55	173
Эффект, %	0	27	68	45	– 73

\*  $p < 0,05$  достоверно относительно контроля; #  $p < 0,05$  достоверно относительно внутрижелудочного введения индометацина (20 мг/кг).

белых беспородных мышах-самцах массой 25 – 30 г, полученных из вивария Института цитологии и генетики СО РАН. Животные содержались в стандартных условиях вивария на обычном пищевом и водном рационе, все манипуляции с ними проводили в строгом соответствии с законодательством РФ и положениями “Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” (Страсбург, 1986 г.).

В каждой серии экспериментов животных делили на группы: контрольные и опытные (по 8 особей в каждой). Технологию получения аэрозолей см. [3]. Для получения аэрозоля использовали субстанции лекарственных препаратов фирмы Fluka (Италия, 99,0 %). Во время опытов животных помещали по одному в стеклянные камеры, которые сообщались с потоком аэрозоля через небольшое отверстие. Методика определения ингаляционной дозы описана в [3, 4, 6, 8, 9].

Формула расчета дозы:

$$Dose = \frac{V_e}{60} n_{av} \varepsilon(d) m t =$$

$$= \frac{V_e}{60} n_{av} \left[ 0,19 + \frac{0,83 - 0,19}{1 + \exp\left(\frac{d(nm) - 12,0}{21,0}\right)} \right] m t,$$

где  $V_e$  — минутный объем, т.е. количество воздуха, проходящего через легкие за 1 мин;  $n_{av}$  — средняя аэрозольная концентрация в аэрозольной камере;  $\varepsilon$  —

эффективность осаждения в легких (величина получена экспериментально);  $m$  — средняя масса частиц;  $t$  — время экспозиции;  $d$  — размер частиц.

Длительность экспозиции наноаэрозоля НПВС составляла 20 мин (время подобрано экспериментально). Оценку анальгетической активности проводили сразу после ингаляции с использованием стандартного теста висцеральной боли “уксусные корчи” (УК). УК вызывали путем внутрибрюшинного введения уксусной кислоты (0,75 %, по 0,1 мл/мышь), болевую реакцию оценивали по количеству корчей с 5 по 8 мин после введения уксусной кислоты. Процент угнетения болевой реакции (УБР) рассчитывали по формуле:

$$100 \% \cdot (A - B)/A,$$

где  $A$  — среднее количество корчей в контрольной группе,  $B$  — среднее количество корчей в тестируемой группе [7].

Статистическая обработка результатов проведена с помощью программного пакета “Statistica 7.0”, результаты представлены как среднее ( $M$ ) ± стандартная ошибка среднего ( $SE$ ). Достоверность определяли по  $t$ -критерию Стьюдента. Результаты считали достоверными при  $p < 0,05$ .

#### Результаты и их обсуждение

Предварительно в отдельной серии экспериментов оценивали эффективность индометацина при внутрижелудочном способе введения в диапазоне доз от 0,002 до 20 мг/кг в виде водно-твиновой суспензии, активность оценивали через 20 мин после введения.

Таблица 2  
Анальгетический эффект бутадiona при ингаляционном способе введения на модели “уксусные корчи” у мышей

Эффект	Контроль	Бутадion, мг/кг			
		внутрижелудочно	ингаляционно	ингаляционно	ингаляционно
		50	$2,0 \cdot 10^{-6}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-3}$
Количество корчей, абсолютные значения	$14,2 \pm 1,2$	$7,6 \pm 1,3^*$	$15,1 \pm 1,4$	$5,7 \pm 2,1^*$	$6,0 \pm 1,4^*$
Количество корчей, %	100	53	130	49	52
Эффект, %	0	47	-30	51	48

\*  $p < 0,05$  достоверно относительно контроля.

Таблица 3  
Анальгетический эффект диклофенака натрия при ингаляционном способе введения на модели “уксусные корчи” у мышей

Эффект	Контроль	Диклофенак натрия, мг/кг			
		внутрижелудочно	ингаляционно	ингаляционно	ингаляционно
		10	$2,1 \cdot 10^{-6}$	$1,2 \cdot 10^{-3}$	$2,1 \cdot 10^{-3}$
Количество корчей, абсолютные значения	$11,5 \pm 1,9$	$4,6 \pm 1,1^*$	$4,7 \pm 1,6^*$	$8,9 \pm 1,6$	$6,6 \pm 0,7$
Количество корчей, %	100	40	41	77	57
Эффект, %	0	60	59	23	43

\*  $p < 0,05$  достоверно относительно контроля.

Показано, что индометацин проявляет анальгетическую активность только в дозе 20 мг/кг.

При исследовании анальгетической активности наноаэрозольной формы индометацина установлено, что значимый, по сравнению с контролем, анальгетический эффект обнаружен после ингаляции наноаэрозоля в дозах  $1,5 \cdot 10^{-2}$  и  $5,9 \cdot 10^{-4}$  мг/кг. При ингаляции дозы  $1,5 \cdot 10^{-2}$  мг/кг отмечается более высокая активность по сравнению с индометацином, введённым внутривенно. В ингаляционной дозе  $5,9 \cdot 10^{-4}$  мг/кг анальгетический эффект был аналогичен эффекту индометацина, введённому внутривенно в дозе 20 мг/кг.

Результаты анальгетического эффекта наноаэрозоля индометацина приведены в табл. 1.

Таким образом, введение ингаляционным способом наноаэрозоля индометацина позволяет значительно повысить его активность при снижении дозы в  $10^5$  раз.

В следующих сериях экспериментов проведено изучение анальгетической активности разных форм доставки бутадиона, определены эффективные дозы бутадиона, как при внутривенном, так и при ингаляционном введении. Результаты исследований представлены в табл. 2.

Как показали исследования, при ингаляции наноаэрозоля бутадиона в дозах  $1,4 \cdot 10^{-4}$  (\*  $p < 0,05$ ) и  $1,3 \cdot 10^{-3}$  (\*  $p < 0,05$ ) у животных наблюдался достоверный по сравнению с контролем и аналогичный референсному препарату анальгетический эффект.

Таким образом, следует отметить что введение бутадиона в виде ингаляции позволяет получить ту же активность, которую получают при снижении дозы в  $10^5$  раз по сравнению с внутривенным введением.

Далее было изучено влияние разных форм доставки диклофенака натрия на проявление анальгетического эффекта. Результаты представлены в табл. 3.

Можно полагать, что снижение его анальгетического эффекта после повышения дозы диклофенака обусловлено увеличением диаметра наночастиц, которые хуже проникают в системный кровоток.

Так же, как и в случае с другими НПВС, в отдельной серии была установлена эффективная доза диклофенака натрия при внутривенном введении, при которой наблюдался высокий анальгетический эффект. Она составила 10 мг/кг.

Для наноаэрозольной формы диклофенака натрия обнаружен достоверный анальгетический эффект в дозе  $2,1 \cdot 10^{-6}$  мг/кг по сравнению с контролем и аналогичное действие диклофенака натрия, введённого внутривенно. Эффективность аэрозольной доставки диклофенака натрия в проявлении свойств, как и в случае с индометацином, бутадином, как минимум, на несколько порядков выше, чем при внутривенном введении.

Таким образом, на основании проведённых исследований можно сделать заключение о том, что при введении нестероидных противовоспалительных средств, таких как индометацин, бутадион и диклофенак, в виде наноаэрозоля, достигается анальгетический эффект такой же, что и при внутривенном введении, но в дозах, на 3 – 5 порядков меньших. Продолжительность действия подтверждается фармакокинетическими исследованиями на ибупрофене. В этом случае сравнили с фармакокинетикой пероральной формы доставки и внутривенной (парентеральная форма, минует ЖКТ, нет эффекта первого прохождения через печень). Результаты данных исследований являются темой следующего сообщения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Е. Л. Насонов, Е. С. Цветкова, Р. М. Балабанова. и др., *Клин. мед.*, № 4, 4 – 8 (1996).
2. J. Dequeker, C. Hawkey, A. Kahan, et al., *Br. J. Rheumatol.*, № 37, 946 – 951 (1998).
3. A. A. Onischuk, *J. Aerosol. Med. Pulmonary. Drug Deliv.*, 22 (2009).
4. T. G. Tolstikova, *Aerosols Handbook Measurement, Dosimetry and Health effects*, L. S. Ruser and N. H. Harley (eds.), CRC Press, Taylor&Francis group., London, New York., Chapt. (2012), № 11, p. 249.
5. A. A. Onischuk, T. G. Tolstikova, et al., *J. Aerosol Med. Pulmonary Drug Deliv.*, 22(3), 245 – 253 (2009).
6. С. В. Аньков, Т. Г. Толстикова, М. В. Хвостов и др., *Химия в интересах устойчивого развития*, № 22, 223 – 227 (2014).
7. А. А. Онищук, Т. Г. Толстикова, И. В. Сорокина и др., *Доклады АН*, 425(5), 692 – 695 (2009).
8. А. Н. Миронов, *Руководство по проведению доклинических исследований*, ФГБУ “НЦЭСМП” Минздрава России, 2013. С. 206
9. A. A. Onischuk, T. G. Tolstikova, I. V. Sorokina, et al., *J. Aerosol Med. Pulmonary Drug Deliv.*, № 21, 231 – 244 (2008).

Поступила 27.11.14

## ANALGESIC EFFECT OF NANO-AEROSOL FORM OF SOME NON-STEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUGS

S. V. An'kov<sup>1</sup>, T. G. Tolstikova<sup>1\*</sup>, A. A. Onishchuk<sup>2,5</sup>, M. V. Khvostov<sup>1</sup>, I. V. Sorokina<sup>1</sup>, A. M. Baklanov<sup>2</sup>, V. M. Fomin<sup>3</sup>, and V. V. Boldyrev<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup> N. N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia

<sup>2</sup> V. V. Voevodsky Institute of Chemical Kinetics and Combustion, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia

<sup>3</sup> S. A. Khristianovich Institute of Theoretical and Applied Mechanics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia

<sup>4</sup> Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia

<sup>5</sup> Novosibirsk State University, Novosibirsk, 630090 Russia

\* e-mail: tolstiktg@nioch.nsc.ru

We have studied the analgesic activity of a nano-aerosol form of some non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), including indomethacin, diclofenac, and butadion. It was found that, in comparison to the traditional mode of administration, the nano-aerosol delivery of these drugs provides for their similar analgesic activity within 5 – 8 min after administration, but at a dose 3 to 5 orders lower than the oral one.

**Keywords:** non-steroidal anti-inflammatory drugs; nano-aerosol form; indomethacin; diclofenac; butadion.