
Дубовик Б.В.¹, Покачайло Л.И.², Неровня А.М.¹, Насек В.М.³, Жукова И.А.³

¹ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь;

² ООО «Лекфарм», Минск, Беларусь;

³ Научно-производственный центр «Институт фармакологии и биохимии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Беларусь

Dubovik B.V.¹, Nerovnya A.M.¹, Pokachailo L.I.², Nase V.M.³, Zhukova I.A.³

¹ Belarussian State Medical University, Minsk, Belarus

² «Lekpharm» Ltd., Minsk, Belarus

³ Scientific Producing Centre « Institute of Pharmacology and biochemistry of the Belorussian National Scientific Academy», Minsk, Belarus;

Гриппомикс: доклиническое изучение специфической фармакологической активности препарата

Grippomix: preclinic specific pharmacological activity study of the medicine

Резюме

Проведено доклиническое изучение специфической фармакологической активности Гриппомикса для оценки возможности использования в качестве средства для лечения простуды на базе ГУ «Научно-производственный центр «Институт фармакологии и биохимии Национальной академии наук Беларуси»».

Установлено, что Гриппомикс на экспериментальных моделях обладает анальгетическим, жаропонижающим и антигистаминным действием, сопоставимым по силе с действием парацетамола и цетиризина при изолированном введении.

По совокупности фармакологических и токсикологических свойств Гриппомикс удовлетворяет требованиям, предъявляемым к комбинированным средствам для лечения простуды, и рекомендуется в качестве средства лечения гриппа, острой респираторной вирусной инфекции, лихорадочных состояний вследствие вирусного поражения дыхательных путей у взрослых и детей.

Ключевые слова: специфическая фармакологическая активность, Гриппомикс.

Resume

A preclinic specific pharmacological activity study of the Grippomix as a medicine for treatment a cold was held on the basis of the governmental establishment «Institute of pharmacology and biochemistry of the Belorussian National Scientific Academy».

With the help of experimental models it was showed that medicinal product Grippomix produce analgetic, antipiretic and antihistamine effect which is comparable with action of Paracetamol and Cetirizine in case of theirs individual administration.

A sum of pharmacological and toxicological data of Grippomix meet the requirements of the combined anti-flu drugs and this medicine is recommended in case of flu, acute respiratory infection, fever as a consequence of viral lesion of the respiratory tract in adults and children.

Key words: specific pharmacological activity, Grippomix.

Гриппомикс – первое отечественное комбинированное лекарственное средство в виде порошка для приготовления раствора для приема внутрь в пакетиках, предназначенное для этиотропного и симптоматического лечения гриппа, острой респираторной вирусной инфекции (ОРВИ), лихорадочных состояний вследствие вирусного поражения дыхательных путей у взрослых и детей.

Фармакологическая активность препарата Гриппомикс обусловлена комплексным действием его компонентов – парацетамола, римантадина гидрохлорида, аскорбиновой кислоты, цетиризина дигидрохлорида и кальция карбоната. Лекарственное средство обладает противовирусным, интерферонотропным, жаропонижающим, противовоспалительным, обезболивающим, антигистаминным и ангиопротекторным действием.

Диагностика ОРВИ зачастую основывается на типичной клинической картине. Клинические проявления ОРВИ разнообразны. Первыми симптомами являются лихорадка и головная боль. Часто бывает, что заболевание не сопровождается никакими проявлениями первые несколько часов и дней. Наличие ОРВИ можно предсказать при наличии признаков пораженных дыхательных путей – ринита, фарингита, тонзиллита, ларингита, бронхита и в единичных случаях – бронхиолита. Повышение температуры, как и эти болезни, не являются обязательным признаком того, что у больного ОРВИ. Лихорадка характерна для гриппа и аденовирусной инфекции. Аденовирусная инфекция также возникает при распространении бактерий в отделах дыхательных путей, обогащенных лимфоидной тканью, – области носоглотки, ротоглотки, миндалин. При таком заболевании разряда ОРВИ, как гиперемия, симптомами является гиперемия лица в совокупности с верхней частью туловища. Переполненная кровеносная система становится причиной покраснения и посинения кожи в этих областях. Трахеит возникает при гриппе. Может быть выражен в приступах кашля или в редком желании кашлять [4].

Целью испытаний было изучение специфической фармакологической активности Гриппомикса на базе ГУ «Научно-производственный центр «Институт фармакологии и биохимии Национальной академии наук Беларуси»».

Программа исследований включала изучение анальгезирующих, жаропонижающих и антигистаминных противоотечных свойств лекарственного средства, которые составляют основу симптоматической активности Гриппомикса при ОРВИ.

Препаратами сравнения служили парацетамол и цетиризина дигидрохлорид.

Для купирования симптомов ОРВИ применяются комбинированные средства, позволяющие воздействовать на основные симптомы инфекции [4].

Анальгетические свойства Гриппомикса

Экспериментальная часть. Эксперименты проведены на 50 самцах мышей линии ICR весом 22–30 г в возрасте 2 месяцев.

Для опыта отбирали здоровых особей с чистым и гладким шерстным покровом и нормальной поведенческой активностью. Из общей партии отобранных животных формировали равноценные группы по 10 животных/дозу, которых рассаживали в отдельные клетки. Накануне эксперимента животных адаптировали к условиям лаборатории при стандартных климатических параметрах и неограниченном доступе к корму и воде.

Анальгетическую активность изучали с использованием тестов, рекомендуемых для изучения обезболивающего действия фармакологических веществ: тестов Tail Flick или отдергивания хвоста, Hot Plate или горячей пластинки [1–3].

Метод изучения болевой чувствительности с использованием анальгезиметра Tail Flick (Columbus Instruments, США) заключается в регистрации латентного периода болевой реакции, проявляющейся в отдергивании животным хвоста при действии на него теплового пучка от лампы, находящейся внутри прибора. Данный метод был впервые предложен D'Amour F.E. and Smith D.L. [4]. Интенсивность свечения лампы может варьировать от 1 до 15 условных единиц. Опытным путем нами было установлено, что оптимальной является интенсивность теплового пучка, равная 8 единицам, что примерно соответствует мощности 8 Вт. Максимальной длительностью латентного периода был выбран интервал 10 с, так как более длительное воздействие теплового пучка может вызвать ожог кожи хвоста животного.

Метод изучения болевой чувствительности с использованием анальгезиметра Hot Plate (Columbus Instruments, США) заключается в регистрации латентного периода болевой реакции, проявляющейся в виде лизания лап, потряхивания ими либо попытки выпрыгнуть при помещении мыши на нагретую до 55 °С металлическую пластинку [5]. Латентный период болевой реакции измерялся в секундах. Максимальной длительностью латентного периода (период cut off) выбран интервал 30 с, так как нахождение животного на пластинке более длительное время могло привести к ожогу лап и причинению животному физических страданий.

Анальгетическое действие Гриппомикса изучали в дозах 1, 2, 4 и 8 г/кг при внутрижелудочном способе введения. Введение препарата в желудок осуществляли с использованием специального зонда, позволяющего провести манипуляцию без повреждения слизистой глотки и пищевода животного. В качестве растворителя использовали дистиллированную воду. Изучаемое средство животным вводили однократно в объеме 0,05 мл/10 г (доза 1 г/кг); 0,1 мл/10 г (2 г/кг); 0,2 мл/10 г (4 г/кг); 0,4 мл/10 г (8 г/кг). Контрольная группа животных получала однократно внутрижелудочно дистиллированную воду в объеме 0,1 мл/10 г.

В используемых тестах болевую чувствительность самцов мышей определяли до введения и через разные промежутки времени после введения Гриппомикса. Статистическую обработку результатов проводили с использованием дисперсионного анализа и апостериорного критерия Тьюки для множественных сравнений.

Результаты. В результате проведенного теста Tail Flick на мышах-самцах ICR действие дозы 1 г/кг было зарегистрировано только по истечении 2 ч после введения, латентный период болевой реакции статистически достоверно увеличился на 17% ($P < 0,05$). Однако тенденция к увеличению длительности латентного периода и болевой реакции просматривалась на протяжении 1 ч по сравнению с исходной величиной.

После введения Гриппомикса в дозе 2 г/кг через часовой промежуток времени наблюдалась тенденция к удлинению латентного периода болевой реакции по сравнению с контрольной группой животных, а через 2 ч – по сравнению с исходной величиной.

Выраженное анальгетическое действие препарата отмечено при применении двух наибольших доз – 4 и 8 г/кг (табл. 1).

В группе животных, получавших дозу 4 г/кг анальгетический эффект наблюдался через 1 ч после введения. Латентный период болевой реакции у мышей достоверно увеличился на 22% по сравнению с показателем в контрольной группе.

Статистически достоверные различия длительности латентного периода болевой реакции по сравнению с показателями в контрольной группе и исходной величиной отмечены при применении дозы 8 г/кг. Анальгетический эффект данной дозы проявился уже через 30 мин после введения и превысил контрольные и исходные показатели на 25% и 24% соответственно. Наблюдалось стабильное сохранение эффекта в течение часа – длительность латентного периода превысила контрольное значение на 39%, ко второму часу намечилось его угасание.

Таким образом, в тесте Tail Flick на мышах-самцах ICR при внутрижелудочковом введении Гриппомикса выраженное анальгетическое действие проявлялось в дозе 4 г/кг через 1 ч после введения и в дозе 8 г/кг через 30 мин и 1 ч после введения.

Латентный период болевой реакции мышей самцов линии ICR в тесте Hot Plate через 30 мин, 1 ч, 2 ч и 3 ч после введения различных доз Гриппомикса оставался на уровне исходных значений и не отличался от таковых показателей в контрольной группе животных (табл. 2).

Аналогичные данные получены при изучении анальгетической активности парацетамола в качестве препарата сравнения (табл. 3).

Заключение. Результаты проведенных испытаний свидетельствуют о наличии у Гриппомикса анальгетических свойств, сравнимых по силе с парацетамолом при изолированном введении.

Таблица 1
Латентный период болевой реакции (секунды) у мышей-самцов ICR после однократного внутрижелудочкового введения Гриппомикса в тесте Tail Flick ($\bar{x} \pm S_x$, $n=10$)

Доза	0 мин	30 мин	60 мин	120 мин	180 мин
1 г/кг	2,26 ± 0,05	2,46 ± 0,13	2,39 ± 0,11	2,65 ± 0,13#	2,40 ± 0,07
2 г/кг	2,55 ± 0,14	2,27 ± 0,12	2,45 ± 0,11	2,73 ± 0,15	2,30 ± 0,09
4 г/кг	2,49 ± 0,14	2,58 ± 0,20	2,59 ± 0,12	2,61 ± 0,08	2,37 ± 0,16
8 г/кг	2,40 ± 0,06	2,97 ± 0,14#	2,97 ± 0,13#	2,63 ± 0,10	2,41 ± 0,06
Контроль	2,67 ± 0,16	2,37 ± 0,13	2,13 ± 0,11	2,82 ± 0,34	2,43 ± 0,10

Примечание: # – различия статистически достоверны по сравнению с исходной величиной по критерию Тьюки.

Таблица 2

Латентный период болевой реакции (секунды) у мышей-самцов ICR после однократного внутрижелудочкового введения Гриппомикса в тесте Hot Plate ($\bar{x} \pm Sx$, $n=10$)

Доза	0 мин	30 мин	60 мин	120 мин	180 мин
1 г/кг	7,80 ± 0,64	7,69 ± 0,70	7,83 ± 0,48	7,59 ± 0,48	7,51 ± 0,60
2 г/кг	7,82 ± 0,51	7,07 ± 0,71	7,66 ± 0,56	6,91 ± 0,68	7,88 ± 0,62
4 г/кг	7,99 ± 0,53	7,08 ± 0,76	6,70 ± 0,51	7,13 ± 0,43	7,26 ± 0,56
8 г/кг	7,89 ± 0,40	7,06 ± 0,69	6,99 ± 0,40	6,91 ± 0,46	7,03 ± 0,24
Контроль	7,88 ± 0,37	7,77 ± 0,74	7,50 ± 0,87	7,97 ± 0,33	7,48 ± 0,48

Антипиретические свойства Гриппомикса

Антипиретическое действие противовоспалительного порошка Гриппомикс изучено в сравнении с парацетамолом на модели пирогеналовой гипертермической реакции у крыс.

Экспериментальная часть. Опыты проведены на 25 белых крысах-самцах линии Вистар массой 160–180 г. Лихорадку вызывали внутрибрюшинным введением пирогенала (НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, серия 482 изг. Об.10, годен до 07.12) в дозе 10 мкг/кг. Гриппомикс вводили однократно внутрь желудочным зондом в виде 20%-го водного раствора через 2 ч после индукции гипертермии в дозах 1,0 и 2,0 г/кг, что эквивалентно 36 и 72 мг/кг парацетамола из расчета на его содержание в препарате. Препаратом сравнения служил парацетамол, используемый в дозе 72 мг/кг. Контрольным животным в качестве плацебо назначали эквивалентный объем растворителя. Антипиретический эффект препаратов регистрировали по изменению ректальной температуры тела животных (измеряемой электротермометром с точностью 0,1 °С) через 3,5 ч после введения пирогенала и соответственно через 1,5 ч после введения Гриппомикса и препарата сравнения. Критерием жаропонижающего действия препаратов служило снижение термогенного действия пирогенала за указанный интервал.

Результаты. Установлено, что пирогенал в данных экспериментальных условиях обладает выраженным пирогенным эффектом (см. рис. 1), вызывает повышение температуры тела крыс в среднем на 0,74 °С ($SD=0,11$, $p<0,001$) по отношению к фону через 2 ч после инъекции и на 0,86 °С ($SD=0,18$, $p<0,001$) через 3,5 ч при оценке по ANOVA. У животных, получивших плацебо, температура тела в период наблюдения существенно не изменялась или снижалась. Следовательно, пирогеналовая

Таблица 3

Латентный период болевой реакции (секунды) у мышей-самцов ICR после однократного внутрижелудочкового введения Гриппомикса в тесте Tail Flick ($\bar{x} \pm Sx$, $n=6$)

Доза (мг/кг)	Время (минуты) после введения				
	Исх.	15	30	60	180
400	2,24 ± 0,13	2,71 ± 0,18	2,48 ± 0,25	2,77 ± 0,40	4,98 ± 1,02*
300	2,29 ± 0,11	2,10 ± 0,11	2,19 ± 0,14	2,21 ± 0,20	2,24 ± 0,16
200	2,40 ± 0,17	2,76 ± 0,29	2,27 ± 0,14	3,21 ± 0,46	2,35 ± 0,17
100	2,65 ± 0,19	2,18 ± 0,08	2,29 ± 0,17	3,02 ± 0,39	2,38 ± 0,14
Контроль	2,43 ± 0,16	2,50 ± 0,11	2,38 ± 0,08	2,24 ± 0,10	2,36 ± 0,09

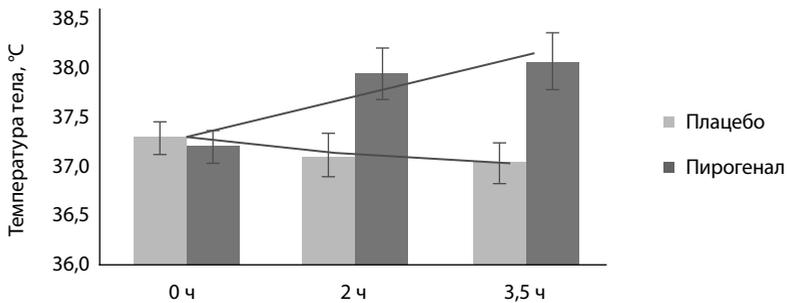


Рис. 1. Изменение температуры тела у крыс через 2 и 3,5 часа после внутривенного введения пирогенала (10 мкг/кг) и плацебо (растворитель), $M \pm SD$, $p=0,001$ (ANOVA)

Примечание: Показаны линии тренда.

модель в данных экспериментальных условиях является релевантной для фармакологического тестирования антипиретического эффекта лекарственных средств.

При оценке антипиретического эффекта Гриппомикса на данной модели установлено, что препарат в дозе 1,0 г/кг, которая эквивалентна 36 мг/кг парацетамола в расчете на его содержание в смеси, обнаруживал жаропонижающий эффект в виде тенденции ($p=0,125$), тогда как в дозе 2,0 г/кг, эквивалентной 72 мг/кг парацетамола, жаропонижающее действие Гриппомикса было статистически достоверно ($p=0,021$ по критерию Тьюки) (рис. 2).

Аналогичный антипиретический эффект оказывал парацетамол в дозе 72 мг/кг при изолированном введении. В табл. 4 представлены данные статистического анализа антипиретической эффективности испытываемых средств по апостериорному критерию Тьюки для множественных сравнений, подтверждающие указанный вывод.

Заключение. Результаты проведенных исследований дают основания заключить, что парацетамол, входящий в состав Гриппомикса в

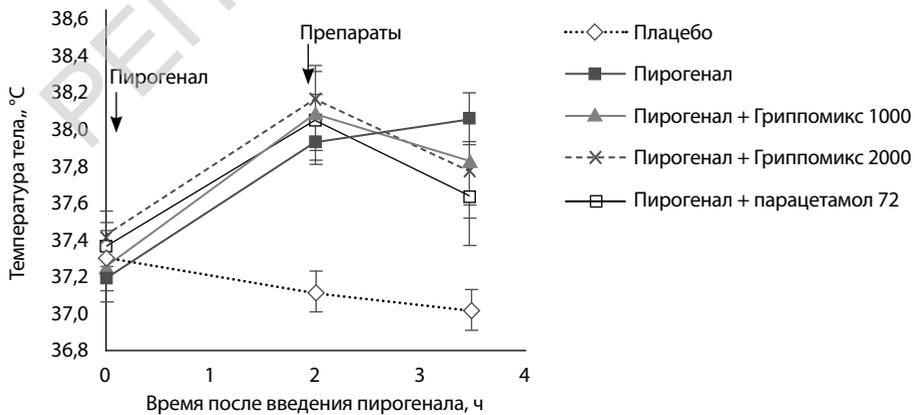


Рис. 2. Влияние Гриппомикса и парацетамола на температуру тела у крыс на пике гипертермической реакции (через 3,5 ч после введения пирогенала, $n=5$)

Таблица 4

Результаты статистической оценки эффективности Гриппомикса и парацетамола при пирогеновой гипертермии по апостериорному критерию Тьюки (n=5)

	Пирогенал	+Гриппомикс 1 г/кг	+Гриппомикс 2 г/кг	+Парацетамол 72 мг/кг
	{1}	{2}	{3}	{4}
{1}	–	0,125	0,021	0,016
{2}	0,125	–	0,795	0,723
{3}	0,021	0,795	–	0,999
{4}	0,016	0,723	0,999	–

Примечание: Оценка проведена по параметру изменения температуры в интервале с 2 ч до 3,5 ч после введения пирогенала, что соответствует 1,5-часовому интервалу действия испытуемых средств на фоне пирогенала.

качестве антипиретического компонента, сохраняет жаропонижающие свойства.

Антигистаминные свойства Гриппомикса

Антигистаминная активность Гриппомикса изучена на модели гистаминового отека лапы в опытах на 36 мышах-самцах линии DBA/2 массой 26–30 г.

Экспериментальная часть. Отек индуцировали путем введения 0,1%-го водного раствора гистамина в объеме 0,04 мл под плантарный апоневроз правой задней лапы. Реакцию оценивали по величине отека стопы через 1, 2, 3, 4 и 5 ч после местной инъекции аутокоида. Отек измеряли с помощью микрометрического устройства, сконструированного на основе разноплечного рычага, с точностью до 0,1 мм в условиях стандартного давления на лапу. Величину отека, рассчитываемую по просторту толщины лапы, выражали в мм.

За 30 мин до индукции отека животным интрагастрально вводили Гриппомикс в виде водного раствора препарата в лекарственной форме в дозах 1,0, 2,0 и 4,0 г/кг, эквивалентных в расчете на единицу поверхности тела соответственно 0,5, 1 и 2 терапевтическим дозам для человека. Цетиризин в качестве препарата сравнения вводили в виде водного раствора в дозе 1 мг/кг, эквивалентной 4 г/кг Гриппомикса в расчете на содержание цетиризина. Контрольные мыши получали внутрь растворитель. Противоотечный эффект оценивали по разности значений прироста толщины лапы в контрольной (плацебо + гистамин) и подопытных группах (препарат + гистамин). Статистический анализ результатов проводили с использованием апостериорного критерия Тьюки для множественных сравнений при 5%-м уровне значимости.

Результаты. Установлено, что субплантарное введение 0,1%-го раствора гистамина гидрохлорида вызывает у мышей выраженную отечную реакцию, характеризующуюся 1-фазной динамикой течения с максимумом развития через 1 ч после инъекции (рис. 3). Реакция затухает в течение последующих 4–5 ч. Субплантарное введение дистиллированной воды вызывало относительно слабую отечную реакцию, что свидетельствует о высокой активности использованной концентрации гистамина и репрезентативности данной модели.

Результаты. Проведенный анализ (табл. 5) показывает, что Гриппомикс оказывает дозозависимое угнетающее влияние на развитие отеч-

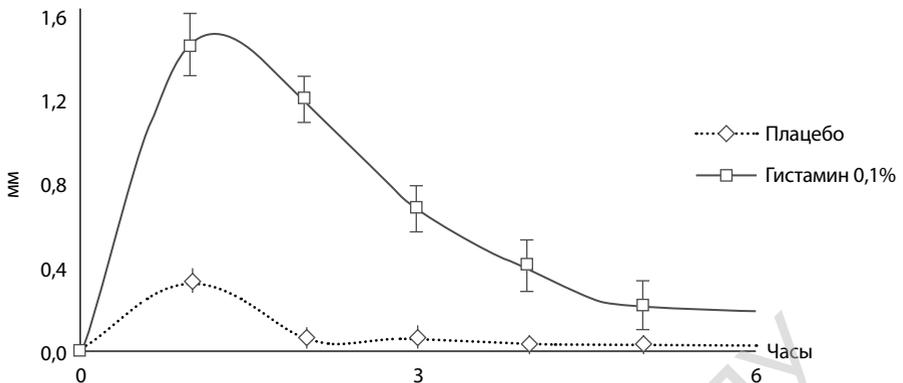


Рис. 3. Динамика острой отечной реакции стопы у мышей на субплантарное введение 0,1%-го раствора гистамина в объеме 0,04 мл и апиrogenной воды

Таблица 5

Значения критерия значимости различий (p) эффекта различных доз Гриппомикс и цетиризина в динамике острой отечной реакции у мышей при множественном сравнении выборок по апостериорному критерию Тьюки

№ группы	Плацебо + гистамин	Гриппомикс			Цетиризин
	(1)	1 г/кг (2)	2 г/кг (3)	4 г/кг (4)	1 мг/кг (5)
1 ч после гистамина					
1 {1}		0,794	0,521	0,021	0,042
2 {2}	0,794		0,990	0,212	0,347
3 {3}	0,521	0,990		0,430	0,615
4 {4}	0,021	0,212	0,430		0,998
5 {5}	0,042	0,347	0,615	0,998	
2 ч после гистамина					
1 {1}		0,827	0,174	0,025	0,014
2 {2}	0,827		0,718	0,215	0,139
3 {3}	0,174	0,718		0,881	0,764
4 {4}	0,025	0,215	0,881		0,999
5 {5}	0,014	0,139	0,764	0,999	
3 ч после гистамина					
1 {1}		0,875	0,365	0,066	0,066
2 {2}	0,875		0,891	0,365	0,365
3 {3}	0,365	0,891		0,875	0,875
4 {4}	0,066	0,365	0,875		1,000
5 {5}	0,066	0,365	0,875	1,000	
4 ч после гистамина					
1 {1}		0,979	0,689	0,851	0,851
2 {2}	0,979		0,356	0,529	0,529
3 {3}	0,689	0,356		0,998	0,998
4 {4}	0,851	0,529	0,998		1,000
5 {5}	0,851	0,529	0,998	1,000	

Примечание: Значения $p < 0,05$ по критерию Тьюки указывают на статистически достоверное различие сравниваемых выборок.

ной реакции лапы у мышей, индуцированной субплантарным введением 0,1%-го раствора гистамина. В дозе 4 г/кг, эквивалентной дозе 1 мг/кг в расчете на содержание цетиризина, эффективность Гриппомикса достигает максимальных значений, достигая 35–40% степени подавления отечной реакции на пике ее развития. В аналогичных экспериментальных условиях подобное угнетение развития отека наблюдалось при изолированном введении цетиризина в дозе 1 мг/кг.

Заключение. Результаты проведенных испытаний позволяют заключить, что на модели острого гистаминового отека лапы у мышей Гриппомикс обладает статистически достоверным противогистаминным эффектом, сравнимым с эффектом цетиризина в дозе, эквивалентной его содержанию в Гриппомиксе.

■ ВЫВОДЫ

В результате доклинического изучения специфической фармакологической активности лекарственного средства Гриппомикс установлено, что препарат на экспериментальных моделях обладает анальгетическим, жаропонижающим и антигистаминным действием, сопоставимым по силе с действием парацетамола и цетиризина при изолированном введении.

По совокупности фармакологических и токсикологических свойств Гриппомикс удовлетворяет требованиям, предъявляемым к комбинированным средствам для лечения простуды, и рекомендуется в качестве средства лечения гриппа, ОРВИ, лихорадочных состояний вследствие вирусного поражения дыхательных путей у взрослых и детей.

■ ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.
2. Руководящий нормативный документ РД-126-91. «Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP)». – М., 1992. – 80 с.
3. Технический кодекс установившейся практики 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика», 34 с.
4. A method for determining loss of pain sensation / F.E. D'Amour [et al.] // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 1941. – № 72. – P. 74–79.
5. The evaluation of analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol) / G. Woolfe [et al.] // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 1944. – № 80. – P. 300–307.

Поступила в редакцию 26.02.2013 г.

Контакты:

e-mail: pokachailo@inbox.ru