*Syrovaya Anna Olegovna, Kharkov National Medical University,*

*Pharm.D., professor, Head of Medical and Bioorganic Chemistry Department*

*Grabovetskaya Evgeniya Romanovna, Kharkov National Medical University,*

*PhD, associate professor, Medical and Bioorganic Chemistry Department*

**Experimental substantiation for new medicinal compositions design**

**Abstract:** Analgesic and antiexudative activities of paracetamol and carbamazepine combinations with caffeine are examined in the experiment on laboratory rats. It is shown that caffeine potentiates antiexudative and analgesic activities of paracetamol and carbamazepine. The composition of paracetamol with caffeine is found to be the most effective among all investigated compounds.

**Keywords:** Paracetamol, carbamazepine, caffeine, antiexudative effect, analgesic activity, drug composition.

Development of effective medicines based on combinations of known drugs is an actual problem of modern pharmacology and pharmacy. The activity of combined drugs allows prescribing only single medicinal product for pharmacological influence on the organs and systems having common pathology. Design of combined drugs with pronounced anti-inflammatory and analgesic properties, whose pharmacological effects are due to rational combinations of ingredients, requires new pharmacological approaches. The advantage of such drugs compared with single preparations is that they effectively inhibit the process of inflammation and its manifestations, including pain, than each separate component. This effect is caused by their simultaneous influence on various links of the pathological process[[1]](#footnote-1). Pain is known to be the main complaint of the patient in a variety of inflammatory diseases, and inflammation is a typical pathological process and the basis for more than 70% of known human diseases[[2]](#footnote-2).

One of the principles of pain pharmacotherapy is the principle of "analgesic staircase"[[3]](#footnote-3). There is a nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) at every step, that is why paracetamol was introduced into the medicinal composition as one of the most widespread NSAIDs. Caffeine, which is well-known adjuvant to non-narcotic analgesics (NNA) and NSAIDs, served as the second component that we introduced into the drug composition. Such compositions are well known in the practical pharmacy[[4]](#footnote-4). Our previous experiments on laboratory animals proved the ability of caffeine to enhance the analgesic effect of known NNA and NSAIDs[[5]](#footnote-5),[[6]](#footnote-6),[[7]](#footnote-7),[[8]](#footnote-8),[[9]](#footnote-9),[[10]](#footnote-10).

We also experimentally found that caffeine is able to potentiate antiexudative effect of NSAIDs[[11]](#footnote-11),[[12]](#footnote-12),[[13]](#footnote-13),[[14]](#footnote-14),[[15]](#footnote-15) . The secondary analgesic and anticonvulsant carbamazepine was selected as the third component of the new drug composition[[16]](#footnote-16). Such pharmaceutical composition is not developed in medical practice yet. Based on the pharmacodynamic properties of paracetamol, caffeine, and carbamazepine[[17]](#footnote-17) and their quantum-chemical properties[[18]](#footnote-18),[[19]](#footnote-19),[[20]](#footnote-20),[[21]](#footnote-21),[[22]](#footnote-22), the composition seems to be promising for the investigation.

 **Materials and methods.** Exudative inflammation serves as a classic example of an acute one[[23]](#footnote-23). Antiexudative effect of paracetamol, carbamazepine, caffeine and their compositions was studied on white male rats of the WAG strain weighing 180-220 g using a “formalin edema” experimental model. Animals were divided into 8 groups, 6 animals in each group. Animals of the 1st group serve as a control, 3% starch mucilage was once orally intragastrically administered to animals of this group. Caffeine (0.6 mg per 1 kg of body weight of the animal) in the form of 3% starch mucilage suspension was once orally intragastrically administered to the animals of the 2nd group. Paracetamol (30 mg per 1 kg of body weight of the animal) was administered to the animals of the 3rd group under the same conditions. Carbamazepine (6,25 mg per 1 kg of body weight of the animal) was administered to the animals of the 4th group. Composition of paracetamol with caffeine in the indicated doses and concentrations in the form of 3% starch mucilage suspension was once orally intragastrically administered to the animals of the 5th group. The 6th group obtained composition of carbamazepine with caffeine in the indicated doses and concentrations. Composition of carbamazepine with paracetamol was administered to the animals of the 7th group, and the 8th group obtained triple mixture of carbamazepine, paracetamol, and caffeine in indicated doses and concentrations. All the experiments were performed in accordance with the modern recommendations. Conversion of the human doses for rats was done by using the ratio of species sensitivity[[24]](#footnote-24),[[25]](#footnote-25).

The drugs and their combinations, as well as starch mucilage (control group) were administered 3 hours after inducing experimental edema and 1 hour before the maximal experimental edema development. Exudative inflammation was modeled by subplantar injection of 0.1 ml of 2% formalin solution in the rat hind paw. Paw volume was measured using oncometer[[26]](#footnote-26) before the experimental formalin injection and 1hour after drugs administration at the moment of maximal swelling.

Analgesic effect of peripheral origin is studied on peripheral component of the nociceptive response using both male and female rats of the WAG strain weighing 210-230 g. Comparative characteristic of the analgesic effect of the paracetamol, carbamazepine, caffeine, and their pharmacological combinations was carried out using the screening model “acetic acid-induced cramps”. The mechanism of pathology under the influence of acetic acid includes activation of kallikrein-kinin system, prostaglandins, biogenic amines, and leukotrienes, which are endogenous mediators of inflammation and contribute to the development of abdominal muscles cramps accompanied by stretching of hind limbs and back arching . Cramps were induced by single intraperitoneal administration of 0.6 % acetic acid at the rate of 1 ml per 100 g weight of the animal. Animals were divided into 8 groups, 6 animals in each group. The 1st group was the control one, 3% starch mucilage was once orally intragastrically administered to animals of this group (2 ml per 200 g of a rat). Investigated drugs and their compositions in the form of 3% starch mucilage suspension were once intragastrically administered to animals of the groups 2nd – 8th similarly to the previous experiment.

Examined compounds and their compositions as well as 3 % starch mucilage were administered 1 hour before administration of algogenic agent. The rats were observed for 20 minutes after acetic acid administration and number of cramps in rats was counted[[27]](#footnote-27).

Analgesic activity was estimated by the ability of paracetamol, carbamazepine, caffeine, and their pharmacological compositions to reduce the number of cramps in the experimental groups in comparison with control animals and expressed as a percentage.

Effect of carbamazepine, paracetamol, caffeine and their compositions on the central component of pain response in rats was studied according to their influence on the central component of pain response using summation-threshold index (STI) which reflects the functional state of the CNS. STI was determined by the criterion of unconditioned-reflex motor reaction of animals in response to electric stimulation with frequency of 2 impulses per second with increasing voltage 1 V per second. Impulse stimulator was employed for this purpose[[28]](#footnote-28),[[29]](#footnote-29),[[30]](#footnote-30).

The distribution of animals in groups and doses of drugs and their combinations were similar to research study of analgesic activity of peripheral origin. STI was determined at the beginning of the experiment (initial pain threshold), in 30, 60 and 90 minutes after administration of suspensions of investigated substances and their compositions.

Laboratory animals employed in the study were kept in experimental biological clinic of KhNMU following the norms of the storage, care and feeding approved by the principles of "European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scientific purposes" (Strasbourg, 1986)[[31]](#footnote-31). Statistical calculations were performed by conventional methods[[32]](#footnote-32).

**Results and discussion.** Results of investigation of antiexudative activity of drugs and their combinations are shown in Fig. 1.



Fig. 1. Experimental study of antiexudative activity of caffeine, paracetamol, carbamazepine and their compositions under condition of formalin edema.

2 – caffeine; 3 – paracetamol; 4 – carbamazepine; 5 – paracetamol + caffeine; 6 – carbamazepine + caffeine; 7 – carbamazepine + paracetamol; 8 – carbamazepine + paracetamol + caffeine

Paracetamol reduces edema by 19%, caffeine – by 35%, carbamazepine and its composition with paracetamol do not reduce the edema. Combined drug paracetamol with caffeine (Group 5) appears to be the most effective: it inhibits edema by 74%, i.e., paracetamol and caffeine mutually potentiate antiexudative activity. Triple mixture paracetamol + caffeine + carbamazepine (Group 8) is also shown to be effective: it inhibits edema by 58%, which is not statistically different from the mixture paracetamol + caffeine (P>0,1). Composition carbamazepine + caffeine (Group 6) suppresses swelling by 40%.

Investigation of the analgesic activity of drugs and their combinations was performed according to influence on the central and peripheral components of pain response in rats. The experimental studies of the analgesic action of peripheral genesis indicate that administration of pure caffeine (analgesic activity (AA) 60%), pure paracetamol (AA 62%), their composition (AA 67%) and the composition caffeine with carbamazepine (AA 55 %) significantly reduces the number of cramps as compared to the control. Analysis of the results of center link of analgesic activity research indicates that administrations of pure caffeine, pure paracetamol, pure carbamazepine, as well as administrations of pharmacological compositions paracetamol + caffeine, carbamazepine +caffeine; carbamazepine + paracetamol and carbamazepine + paracetamol + caffeine cause significant decrease in the summation ability of CNS in rats as compared to the control group and initial level. This fact confirms the central mechanism of analgesic activity of drugs and their pharmacological compositions. Analysis of comparative characteristics of central link of analgesic activity research according to STI in case of administration of pure paracetamol and pure carbamazepine and in case of administration of pharmaceutical compositions indicates that caffeine potentiates analgesic activity of paracetamol and carbamazepine (Table 1.).

Table 1. Experimental research of central component of the analgesic activity of caffeine, paracetamol, carbamazepine and their compositions.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Conditions | Analgesic activity in 30 minutes, % | Analgesic activity in 60 minutes, % | Analgesic activity in 90 minutes, % |
| Caffeine | 36,79 | 32,76 | 16,96 |
| Paracetamol | 11,21 | 14,45 | 20,81 |
| Carbamazepine | 6,63 | 11,40 | 26,74 |
| Paracetamol+ caffeine | - | 26,67 | 42,83 |
| Carbamazepine +caffeine | 23,31 | 15,15 | 39,16 |
| Paracetamol + carbamazepine | 29,15 | 30,51 | 30,73 |
|  Paracetamol + carbamazepine + caffeine | 9,33 | 15,67 | 29,38 |

**Conclusions**

1. Investigated drug compositions: paracetamol + caffeine, carbamazepine+ caffeine, paracetamol + carbamazepine+ caffeine show analgesic and antiexudative activity and are promising for the research.

2. Caffeine potentiates analgesic activity and antiexudative activity of paracetamol and carbamazepine.

1. Сирова Г.О. Експериментальне та квантово-хімічне обґрунтування створення комбінованого протизапального препарату: Автореф. дис. …док. фарм. наук. – Харків, 2011. – 36с. [↑](#footnote-ref-1)
2. Трещинский А. И. Нестероидные обезболивающие противовоспалительные средства / А. И. Трещинский, Л. В. Гсивая, Ф. С. Глумчер. – К.: Вища шк., 1996. – 80 с. [↑](#footnote-ref-2)
3. Шухов В.С. Боль. Клинические рекомендации по ведению больных с различными болевыми синдромами / В.С. Шухов // Новости медицины и фармации. – 2007. - №4 (208). – С. 19 – 21. [↑](#footnote-ref-3)
4. Компендиум 2013 – лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко – К.: МОРИОН, 2013. – 2360 с. [↑](#footnote-ref-4)
5. Boiko I. Experimental confirmation of the caffeine’s potentiation of the analgetic properties /I. Boiko, G. Syrova, T. Ermolenko // 3rd International Scientific Interdisciplinary Congress for medical students and young doctors. – Kharkiv, – 2010. – Р. 14. [↑](#footnote-ref-5)
6. Патент № 56451 Україна, МПК А61К31/519 Спосіб підсилення анальгетичної дії периферичного генезу нестероїдних протизапальних і протиревматичних засобів, похідних оцтової та пропіонової кислот / Сирова Г.О., Бачинський Р.О., Петюніна В.М., Савельєва О.В., Бойко Є.П.// опубл. 10.01.2011., Бюл. № 1. [↑](#footnote-ref-6)
7. Експериментальне визначення впливу кофеїну на протибольову дію відомих нестероїдних протизапальних засобів різної хімічної будови / Г. О. Сирова, Р. О. Бачинський, Н. В. Вакуленко, Є.П. Бойко // Запорожский медицинский журнал. - 2011. - Т. 13, № 5. - С. 60-62. [↑](#footnote-ref-7)
8. Способ повышения противоболевой активности ибупрофена и диклофенак-натрия/ А.О. Сыровая, Р.О. Бачинский, Т.И. Ермоленко и др.//.XVIII Российский Национальный Конгресс «Человек и лекарство». Сборник материалов конгресса (тезисы докладов), 11 – 15 апреля 2011 г., Москва. – С. 440. [↑](#footnote-ref-8)
9. Експериментальне вивчення специфічної дії диклофенак-натрію та його композиції з кофеїном / Л.В. Лук’янова, Г.О. Сирова, Р.О. Бачинський та ін. // Український біофармацевтичний журнал. – 2012. – №5-6 (22-23). – С.67-72. [↑](#footnote-ref-9)
10. Експериментальне вивчення специфічної дії ібупрофену та його композиції з кофеїном / Г.О. Сирова, Є.Р. Грабовецька Р.О. Бачинський та ін. // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. - 2013. - № 1(11). - С. 34-37. [↑](#footnote-ref-10)
11. Бойко Є.П. Можливість підвищення антиексудативної дії НПЗЗ шляхом їх комбінації з кофеїном / Є.П. Бойко, Є.Р. Грабовецька, Г.О.Сирова // Матеріали 64 Міжнародної науково практичної конференції студентів і молодих вчених «Актуальні проблеми сучасної медицини», 3-4 листопада 2010 р. Україна, Київ Український науково-медичний молодіжний журнал 2010р. спец. випуск №4 С. 479-480. [↑](#footnote-ref-11)
12. Патент № 59396 Україна, МПК А61К31/00-31/80 Застосування композицій нестероїдних протизапальних засобів з кофеїном як препаратів з антиексудативною активністю / Сирова Г.О., Грабовецька Є.Р., Шаповал Л.Г., Наконечна С.А., Вакуленко Н.В., Бойко Є.П.// опубл. 10.05.2011. Бюл. № 1. [↑](#footnote-ref-12)
13. Експериментальне вивчення антиексудативної дії композицій диклофенаку натрію та ібупрофену з кофеїном / Г. О. Сирова, Є. Р. Грабовецька, Л. Г. Шаповал, Є. П. Бойко // Експериментальна і клінічна медицина. - 2011. - N 2. - С. 53-55. [↑](#footnote-ref-13)
14. Експериментальне вивчення специфічної дії диклофенак-натрію та його композиції з кофеїном / Лук’янова Л.В., Сирова Г.О., Бачинський Р.О. та ін. // Український біофармацевтичний журнал. – 2012. – №5-6 (22-23). – С.67-72. [↑](#footnote-ref-14)
15. Експериментальне вивчення специфічної дії ібупрофену та його композиції з кофеїном / Сирова Г.О., Грабовецька Є.Р., Бачинський Р.О. та ін. // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. - 2013. - № 1(11). - С. 34-37. [↑](#footnote-ref-15)
16. Сирова Г.О. Вивчення в експерименті протибольової та протисудомної дії нової комбінації, що містить карбамазепін / Г.О. Сирова // Медична хімія. – Т. 11, №2. – 2009. – С. 119-122. [↑](#footnote-ref-16)
17. Компендиум 2013 – лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко – К.: МОРИОН, 2013. – 2360 с. [↑](#footnote-ref-17)
18. Квантово-фармакологічне обгрунтування потенціювальних протибольових властивостей кофеїну / Г.О. Сирова, Т.Ю Небесна, Звягінцева Т.В., І.С. Чекман // Фармацевтичний журнал. – 2008. – №6. – С. 85-90. [↑](#footnote-ref-18)
19. Дослідження квантово-фармакологічних властивостей молекули карбамазепіну / Г.О. Сирова, Т.Ю. Небесна,Т.В. Звягінцева, І.С. Чекман // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2008. - № 5/6 (6/7). – С. 25-29. [↑](#footnote-ref-19)
20. Квантово-хімічні дослідження кофеїну / Г.О. Сирова, Т.Ю Небесна, Звягінцева Т.В., І.С. Чекман // Материалы VI Международной научно-технической конференции «Актуальные вопросы теоретической и прикладной биофизики, физики и химии» м. Севастополь. – 2010. – Т. 1. – С. 174-176. [↑](#footnote-ref-20)
21. Квантово-хімічні властивості карбамазепіну / І.С. Чекман, Т.В. Звягінцева, Т.Ю.Небесна, Г.О. Сирова // Материалы VII Международной научно-технической конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии БФФХ – 2011». м. Севастополь, – 2011. – С. 310. [↑](#footnote-ref-21)
22. Syrovaya A. O. Investigation of quantum-chemical properties of paracetamol / А. O. Syrovaya, O. L. Levashova, S. V. Andreeva // Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. – 2015. – № 7 (1). – P. 307–311. [↑](#footnote-ref-22)
23. Щокіна К.Г. Порівняння протиексудативної дії сучасних нестероїдних протизапальних засобів / К.Г. Щокіна, С.М. Дроговоз, Ю.М. Максимов //Ліки. – 2004. – № 3-4. – С. 34-40. [↑](#footnote-ref-23)
24. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За редакцією О.В. Стефанова. – Київ, 2001. – 527 с. [↑](#footnote-ref-24)
25. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев., Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – №6. – С. 1513 – 1516. [↑](#footnote-ref-25)
26. Захаревский А.С. Влияние некоторых производных индола на нервную систему: Автореф. дис. …канд. мед наук. – Минск, 1969. – 78-80с. [↑](#footnote-ref-26)
27. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За редакцією О.В. Стефанова. – Київ, 2001. – 527 с. [↑](#footnote-ref-27)
28. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению нестероидных противовоспалительных фармакологических веществ / Ф. П. Тринус, Б. М. Клебанов, В. И. Кондратюк и др. – М., 1983. – 15 с. [↑](#footnote-ref-28)
29. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ, предлагаемых в качестве нестероидных противовоспалительных средств/ ФК МЗ Украины. – К., 1994. – 40 с. [↑](#footnote-ref-29)
30. Сперанский С. В. О преимуществах использования нарастающего тока при исследовании способности белых мышей к суммации подпороговых импульсов / С. В. Сперанский // Фармакология и токсикология. – № 1. – 1965. – С. 123–124. [↑](#footnote-ref-30)
31. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Council of European. – Strasbourg, 1986. – № 123. – 51 p. [↑](#footnote-ref-31)
32. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. / Под ред. С. Гланц. – М.: Практика, 1998. – 459 с. [↑](#footnote-ref-32)