بررسی تاثیر گلوکزآمین بر روی فرآیندهای انحلال، اتصال پروتئینی و ضریب توزیع ایبوپروفن

*یوسف جوادزاده[۱و۲]، سولماز اثنا عشری[۲]، علی نخودچی[۱و۲] و باربارا کانوي[۳]
[۱]دانشکده داروسازي دانشگاه علوم پزشکي تبريز،[۲] مرکز تحقيقات کاربردي داروئي دانشگاه علوم پزشکي تبريز، [۳] دانشکده داروسازي دانشگاه استون انگلستان
تاریخ دریافت: ۸۴/۲/۲۲ ، تاریخ پذیرش:۸۴/۶/۲۱

Evaluating the effect of glucosamine on dissolution, protein binding and partition coefficient of ibuprofen

Javadzadeh Y.[1, 2]*, Asnaashari S.[2], Nokhodchi A. [1,2], Conway B. [3]
[1]Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, [2]Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, [3] School of Pharmacy, Aston University, UK
Received: 2005/5/12 , Accepted: 2005/9/12

OBJECTIVES: Ibuprofen was the first non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) which was commonly used for the treatment of pain and inflammation. Ibuprofen can cause serious gastrointestinal, renal and cardiovascular side effects especially when used in high doses and/or over long periods of time. NSAIDs have been combined with other drugs, including opioid analgesic agents and glucosamine in order to achieve an effective degree of analgesia with lower dosage of the NSAID. These combination products exhibit a variety of effects on the level of analgesia, which may be sub-additive (inhibitory), additive or super additive (synergistic). Contrastive pharmacological results have been obtained in co-administration of ibuprofen and glucosamine. The reason for these contrastive results is unknown. In this study, we tried to understand the reason of these contradictions. **METHODS:** For this mean, solubility, dissolution rate, protein binding and partition coefficient of ibuprofen alone and in combination with glucosamine were studied. **RESULTS:** The results showed that glucosamine increased solubility and dissolution rate of ibuprofen. In preparations with 1:1 or higher ratios of ibuprofen to glucosamine, the protein binding of ibuprofen was increased. The peak of melting point was altered in DSC thermogram that can indicate to formation of complex between ibuprofen and glucosamine during process. Partition coefficient of drug decreased in combination form with glucosamine. This is an important phenomenon in permeability of drug through mucus membrane. **CONCLUSION:** The Above results may be helpful to explain the contrastive results that obtained from studies.
Keywords: *Glucosamine, Dissolution rate, Protein binding, Ibuprofen.*

زمینه و هدف: ایبوپروفن اولین دارو از دسته داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی است که بطور شایع برای درمان درد و التهاب مورد استفاده قرار گرفت. ایبوپروفن میتواند سبب بروز برخی عوارض جانبی جدی نظیر ناراحتی های گوارشی، عوارض کلیوی و قلبی-عروقی شوند. این عوارض بویژه در مصرف دوزهای بالا یا مصرف طولانی مدت چشمگیر می باشد. بنابراین به منظور بدست آوردن اثرات ضد دردی موثر، این دسته از داروها با سایر داروها نظیر ضد دردهای مخدر و گلوکزآمین ترکیب شده و مورد استفاده قرار می گیرند. نتایج متناقضی در مصرف همزمان ایبوپروفن با گلوکزآمین بدست آمده است که دلیل آن ناشناخته می باشد. در این مطالعه سعی شده است تا دلیل این تناقض مورد مطالعه قرار گیرد. **روش ها:** به همین دلیل در این مطالعه محلولیت، سرعت انحلال، اتصال پروتئینی و ضریب توزیع دارو به تنهایی و در ترکیب با گلوکزآمین مورد بررسی قرار گرفته است. **یافته ها:** نتایج حاصله نشان داد که گلوکزآمین محلولیت و سرعت انحلال ایبوپروفن را افزایش می دهد. نیز گلوکزآمین در نسبتهای ۱:۱ و یا بالاتر اثرات بارزی بر میزان اتصال پروتئینی ایبوپروفن داشته و آنرا افزایش می دهد. پیک مربوط به نقطه ذوب ایبوپروفن در ترموگرام DSC در حالت ترکیبی با گلوکزآمین دچار شیفت می شود که فرضیه احتمال تشکیل کمپلکس بین دارو و گلوکزآمین را تقویت می کند. ضریب توزیع دارو بین اکتانول و آب در حالت ترکیبی دارو با گلوکز کاهش پیدا نمود که این امر می تواند در نفوذپذیری دارو از غشاهای مخاطی موثر باشد. نتیجه گیري: یافته هاي بالا تا حدودي مي تواند در توجیه نتایج متناقض بدست آمده از مطالعات مفید باشد.
واژه هاي کلیدي: گلوکزآمین، سرعت انحلال، اتصال پروتئینی، ایبوپروفن.

*نویسنده مسئول: دکتر یوسف جوادزاده، دانشکده داروسازي دانشگاه علوم پزشکي تبریز، تلفن: ۳۳۹۲۶۰۶، نمابر: ۳۳۴۴۷۹۸

**Corresponding Author: Dr Yousef Javadzadeh, Assistant Professor,* Faculty *of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tel: 3392606; E-mail: javadzadehy@yahoo.com*

۱- مقدمه

ایبوپروفن اولین دارو از دسته داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی است که به طور شایع برای درمان درد و التهاب مورد استفاده قرار گرفت. این دارو یک دارو با ماهیت اسیدی با pKa= ۵/۲ بوده و سریعاً بعد از مصرف خوراکی جذب می شود (۱). ایبوپروفن و سایر داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی می توانند سبب بروز برخی عوارض جانبی جدی نظیر ناراحتی های گوارشی، عوارض کلیوی و قلبی- عروقی شوند (۲). این عوارض بویژه در مصرف دوزهای بالا یا مصرف طولانی مدت چشمگیر می باشد. بنابراین به منظور بدست آوردن اثرات ضد دردی موثر، این دسته از داروها با سایر داروها نظیر ضد دردهای اپیوئیدی و گلوکزآمین ترکیب شده و مورد استفاده قرار می گیرند. این فرآورده های ترکیبی اثرات متفاوتی بر میزان ضد دردی دارو اعمال می کنند که ممکن است مهاری، تجمعی و یا سینرژیستی باشد (۳). گلوکزآمین یک میانجی داخلی اساسی در مسیر بیوسنتز پروتئوگلیکان ها که واحدهای ساختاری اولیه بافتهای مفصلی و غضروف هستند می باشد. ترکیبات گلوکزآمینی فعالیت ضد التهابی ضعیفی داشته و فاقد اثرات ضد دردی می باشد (۳ و ۴). در چندین مطالعه اثرات ضد دردی بدست آمده از مصرف گلوکزآمین در بیماریهای ورم مفاصل نسبت به اثرات ضد دردی حاصل شده از انواع ترکیبات دیگر مورد مطالعه قرار گرفته است (۵ و ۶). برای مثال ثابت شده است که در ترکیب گلوکزآمین با NSAID هایی نظیر ایبوپروفن، اثربخشی شکل دارویی برابر یا بیشتر از اثرات ضد دردی داروی ضد درد تنها در دوزهای ضد دردی آن می باشد (۳). بر عکس مطالعات دیگر نشان داده اند زمانی که گلوکزآمین در نسبتهای مشخصی مثلاً با ایبوپروفن ترکیب می شود، اثربخشی ضد دردی دارو کاهش پیدا می کند. نتایج حاصل از یک مطالعه که از مدل درد دندان برای بررسی اثرات ضد دردی ایبوپروفن در مقایسه با ترکیب ایبوپروفن و گلوکزآمین استفاده می کرد ثابت نمود که ایبوپروفن به تنهایی بطور معنی داری موثرتر از فرآورده ترکیبی آن با گلوکزآمین میباشد (۷). دلیل این نتایج متناقض ناشناخته میباشد. در این مطالعه سعی شده است تا دلیل این تناقض مورد مطالعه قرار گیرد. به همین دلیل بر روی چهار نکته مطالعه صورت گرفت:

۱- بررسی تاثیر گلوکزآمین بر روی محلولیت و سرعت انحلال ایبوپروفن
۲- بررسی تاثیر گلوکزآمین بر روی اتصال پروتئینی ایبوپروفن
۳- بررسی طیف DSC برای فهم هرگونه تشکیل کمپلکس احتمالی بین ایبوپروفن و گلوکزآمین
۴- بررسی ضریب پخش (Partition Coefficient) ایبوپروفن به تنهایی و نیز در ترکیب با گلوکزآمین.

۲- مواد و روشها

۲-۱: مواد

- ایبوپروفن (تهیه شده از کارخانه GSK)
- ایبوپروفن رادیواکتیو شده (carboxy-14C, 50.3mci/mmol)
- فن پروفن (Sigma- UK)
- گلوکزآمین هیدروکلرید (Sigma- UK)
- پلی سوربات ۸۰ (Aldrich, UK)
- پتاسیم دی هیدروژن فسفات (Fisher,UK)
- $Na_2HPo_4. 2H_2O$ (Fisher,UK)
- استونیتریل (Fisher,UK)
- اسید فسفریک (Sigma- UK)

۲-۲: روشها

۲-۲-۱: تعیین مقدار ایبوپروفن بروش HPLC

سیستم کروماتوگرافی HPLC (Shimadzu, C-R4AX Chromatopac, Japan) با دتکتور قابل تنظیم UV که در طول موج ۲۲۵ نانومتر تنظیم شده بود برای تعیین مقدار ایبوپروفن مورد استفاده قرار گرفت. ستون آنالیز از نوع C18 ساخت کارخانه Waters (ODS-2, 150mm) بود. فاز متحرک مخلوط استونیتریل: آب: ارتوفسفریک اسید (۵۰۰: ۵۰۰: ۱۰) و سرعت جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه و حجم تزریق برابر ۲۰ میکرولیتر بود. محلولهای استاندارد در محدوده غلظت ۰/۰۰۰۱۲۵ . تا ۰/۰۱ . میلی گرم در میلی لیتر با رقیق سازی متوالی محلول استوک تهیه گردید. در تمامی آزمایشات تمامی نمونه های مورد بررسی طوری انتخاب شد که غلظت آنها در این محدوده قرار گرفته باشد. غلظت استاندارد داخلی (فن پروفن) در محلولهای استاندارد و نمونه ها طوری انتخاب شد که جذب آن تقریباً در وسط محدوده جذب مربوط به استاندارد ایبوپروفن بوده تا سطح زیر منحنی مشابهی با آنها ایجاد کند. تمامی محلولهای مورد بررسی بوسیله مخلوط حلال استونیتریل و آب (۵۰: ۵۰) رقیق می شدند.

۲-۳: بررسی محلولیت

مطالعات محلولیت ایبوپروفن در شش محیط آب، محلول ۲ % پلی سوربات ۸۰، محلولهای ۲% پلی سوربات ۸۰ حاوی ۱/۳، ۲/۵ و ۵ گرم در لیتر گلوکزآمین و محلول ۱/۳ گرم در لیتر گلوکزآمین در آب انجام گرفت. ابتدا محلولهای اشباع دارو در این محیطها تهیه و غلظت دارو بوسیله HPLC مورد آنالیز قرار گرفت. برای اینکار ایبوپروفن در لوله های ۱۰ میلی لیتری با مقادیری مناسبی از این محیط ها طوری مخلوط گردید که سیستم حاوی مقادیر مازادی از دارو باشد. این مخلوط ها بمدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه

سانتی گراد و تحت ویبراسیون ثابت بهم زده شده و بعد از سانتریفیوژ حجم دقیقی از محلول اشباع فیلتر شده با مخلوط استونیتریل و آب (۵۰:۵۰) رقیق و بروش HPLC آنالیز شد. سپس نتایج بدست آمده در ضرایب رفت ضرب گردید تا غلظت ایبوپروفن در محلولهای اشباع حلال مورد مطالعه بدست آید.

۲-۴: بررسی انحلال

برای بررسی پروفایل انحلال ایبوپروفن در تمامی محیطها، دستگاه شماره ۲ USP (روش پارو) مورد استفاده قرار گرفت (Hanson Research, SR6, USA). در هر بار مقدار مشخصی از ایبوپروفن در هر وسل از دستگاه قرار داده شده و تست انحلال در مـورد آن صورت می گرفت. ایـن کار در مورد ۶ محیط انحلال ذکر شده در بـالا در حجم ۱۰۰۰ سی‌سی صورت گرفت. دمای محیط انحلال در ۳۷ درجه سانتی گراد و دور دستگاه در ۵۰ rpm ثابت نگه داشته شد. نمونه ها در دقایق ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه برداشته و پس از فیلتراسیون و رقیق سازی بروش HPLC آنالیز میشد. حجم برداشتی در هر بار نمونه برداری با همان حجم از محیط انحلال جایگزین می شد.

۲-۵: بررسی اتصال پروتئینی

در بررسی اتصال پروتئینی بعلت مقدار خیلی کم داروی آزاد در محیط (بافر با pH= ۷/۴) تعیین مقدار آن بروش HPLC غیر ممکن بود. بنابراین تکنیک رادیوایمنواسی برای تعیین مقدار ایبوپروفن بکار گرفته شد. بـرای این منظور ابتدا ۰/۵ میلی لیتر از سرم آلبـومین انـسانی (۸۰ mg/ml) بـه ۰/۵ میلی لیتر از محلول ایبوپروفن (100 µg/ml) افزوده شده و سپس ۰/۰۱۵ میلی لیتر از ایبوپروفن نشان دار شده رادیواکتیو به این مخلوط اضافه و بهم زده می شد.

سپس ۷۵ µl از محلول نهایی به تیوب های میکرودیالیزی (micro dispo dialyzer™ MWCo 5K Dalton, Harvard Bioscience Amika, USA) ریخته شد. سپس این تیوب ها در ۳۰ میـلی لیـتر از محلول بافر بـا pH= ۷/۴ شناور شده و اجازه داده شد تا به تعادل برسند (۲۴ ساعت). سپـس ۰/۵ میلی لیتر نمونه از محیط برداشته و پس از رقیق سازی با ۵ میلی لیتر از اپتی فاز (optiphase "HiSafe"3)، میزان رادیواکتیویتی در دستگاه کانتر شمارش گردید.

با توجه به حجم محیط و میزان رادیواکتیویتی شمارش شده محلول اولیه، درصد داروی باند نشده محاسبه گردید.

۲-۶: بررسی طیف **DSC**

برای بررسی هر گونه تشکیل کمپلکس احتمالی بین ایبوپروفن و گلوکزآمین، طیف DSC ایبوپروفن تنها، مخلوط فیزیکی آن با گلوکزآمین و پودر تهیه شده بروش spray drying که حاوی ایبوپروفن و گلوکزآمین بود گرفته شد. آزمایش در تمامی نمونه ها سه بار با دو سرعت ۲۰ و ۱۰۰ درجه در هر دقیقه انجام گرفت.

۲-۷: بررسی ضریب پخش

گلوکزآمین حداقل با دو مکانیسم می تواند نفوذ پذیری غشا ایبوپروفن را تحت تاثیر قرار دهد.

۱)گلوکزآمین ممکن است نفوذ پذیری غشا را با تاثیر مستقیم روی غشا دچار تغییر کند.

۲)گلوکزآمین ممکن است با ملکولهای حل شده ایبوپروفن کمپلکسی را تشکیل دهد که می تواند ضریب پخش دارو را تغییر دهد. این امر می تواند با تعیین ضریب پخش دارو در آب و روغن در حضور گلوکزآمین مشخص گردد. برای این منظور ۵۰ میلی لیتر از اکتانول و ۵۰ میلی لیتر از آب در بشر افزوده شده و اجازه داده مي شد تا از هم اشباع گردند. سپس ۱ میلی لیتر از محلول µg/ml ۱۰ ایبوپروفن به بشر اضافه گردید و بهم زده مي شد و اجازه داده شد تا به تعادل برسد. این کار در مورد محلول حاوی ایبوپروفن و گلوکزآمین (نسبت ۱: ۱) تکرار گردید. سپس مقدار ایبوپروفن در فاز آبی بروش HPLC آنالیز گردید. چنانچه غلظت دارو در دو نمونه برداري متوالي تغيير پيدا نمي كرد آن نقطه بعنوان نقطه تعادل محسوب مي شد.

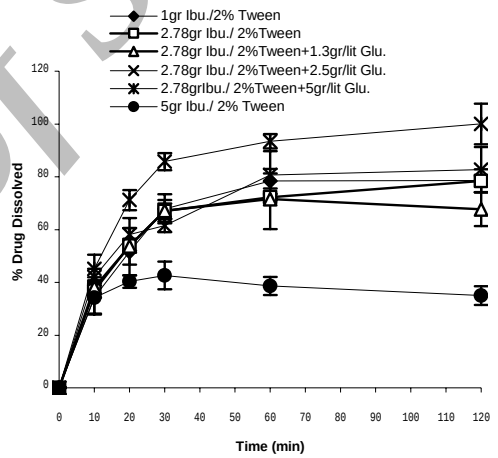
۳- نتایج

نتایج حاصل از اندازه گیری محلولیت و pH محیطهای مختلف در جدول ۱ آمده است.

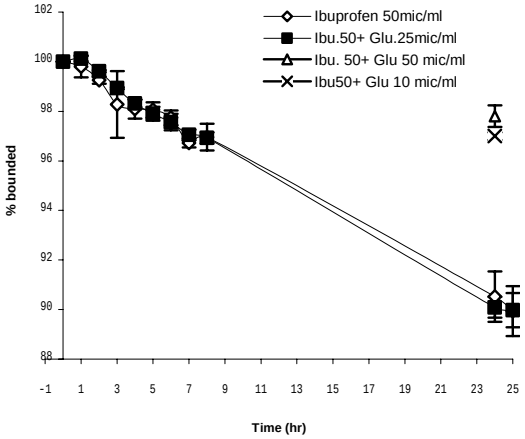
جدول ۱: نتایج حاصل از اندازه گیری محلولیت در محیطهای مختلف (n=۳)

محیط	pH	محلولیت (mg/ml)
آب	۵ /۸۴	۰ /۰۴۸۳
محلول ۲% پلی سوربات ۸۰	۵ /۷۴	۲ /۳۱۶
۱ /۳ گرم در لیتر گلوکزآمین در محلول ۲% پلی سوربات ۸۰	۵ /۲۶	۲ /۲۰۶
۲ /۵ گرم در لیتر گلوکزآمین در محلول ۲% پلی سوربات ۸۰	۴ /۹۹	۲ /۱۴۲
۵ گرم در لیتر گلوکزآمین در محلول ۲% پلی سوربات ۸۰	۴ /۷۰	۲ /۰۹۹
۱ /۳ گرم در لیتر گلوکزآمین در آب	۴ /۹۶	۰ /۰۴۵۳

هـمان طوری که مشاهده می شود میزان pH با افزایش غلظت گلوکزآمین در محیط کاهش می یابد. شکل ۱ پـروفایل انحلال ایبوپروفن را در محیط های مخـتلف نـشان می دهد.



شکل ۱: پروفایل انحلال ایبوپروفن در محیطهای مختلف (n= ۶).



شکل ۲: پروفایل اتصال پروتئینی ایبوپروفن (n=۳).

مشاهده می شود که سرعت انحلال ایبوپروفن با افزایش گلوکزآمین در محیط افزایش می یابد.

شکل ۲ پروفایل اتصال پروتئینی ایبوپروفن را در ۸ ساعت اول و بعد از ۲۴ ساعت نشان می دهد. همانطوری که مشهود است ۸ ساعت برای رسیدن به حالت تعادل کافی نبوده بنابراین اجازه داده شد تا به تعادل رسیده و بعد از ۲۴ ساعت دوباره نمونه برداری گردید.

مطالعه ضریب پخش نشان داد که logP (لگاریتم غلظت دارو در فاز اکتانول به غلظت دارو در فاز آبی) به ترتیب برابر ۱/ ۲ و ۹۲/ ۱ در مورد ایبوپروفن تنها و شکل ترکیبی ایبوپروفن با گلوکزآمین می باشد.

۴- بحث و بررسی

با توجه به جدول ۱ کاهش pH با افزایش غلظت گلوکزآمین به خاطر آن است که گلوکزآمین هیدروکلرید نمک یک باز ضعیف بوده و افزایش آن در محلول سبب کاهش میزان pH خواهد شد. همانطوری که مشهود است افزایش گلوکزآمین باعث کاهش محلولیت ایبوپروفن می شود. اگرچه این میزان کاهش کمتر از مقدار مورد انتظاری است که از محاسبه تـئوریتیکی بر پایه معادله $pH=pKa+\log [(s-s_o)/ s_o]$ بدست می آید. مطابق این معادله در مورد داروهای اسیدی ضعیف نظیر ایبوپروفن، با کاهش میزان pH مقدار محلولیت کمتری از دارو مورد انتظار است. بنابراین میتوان چنین تصور که دو عامل در محلولیت ایبوپروفن موثر بوده اند: الف) pH محیط ب) وجود گلوکزآمین در محیط که دارای اثرات مثبت بر روی محلولیت ایبوپروفن می باشد. مقایسه پروفایل انحلال ایبوپروفن در محیط ۲% توین ۸۰ با محیط حاوی g/L ۱ /۳ گلوکزآمین نشان می دهد که در ۶۰ دقیقه نخست تفاوت محسوسی بین آنها مشاهده نمی شود ولی در سایر محیطها افزایش غلظت گلوکزآمین باعث افزایش سرعت انحلال ایبوپروفن شده است. برای مثال در محیط حاوی g/L ۵

گلوکزآمین بالاترین سرعت انحلال مشاهده شده است و پروفایل انحلال آنها برتری قابل ملاحظه ای نسبت به سایر فرمولاسیونها دارد. علت احتمالي این است که گلوکزآمین در نسبت ۱:۱ یا بیشتر تشکیل نمک گلوکزآمین و یا کمپلکسی را با ایبوپروفن تشکیل می دهد که می تواند مسئول افزایش سرعت انحلال ایبوپروفن باشد (۲). مطابق شکل ۲، گلوکزآمین در نسبت ۱:۲ (ایبوپروفن: گلوکزآمین) تاثیری روی میزان اتصال پروتئینی ایبوپروفن ندارد اما در نسبتهای ۱:۱ و ۲:۱، میزان اتصال پروتئینی بطور محسوسی افزایش پیدا می کند. برای مثال این میزان از ۹۰% در مورد ایبوپروفن تنها به ۹۷% در ترکیب با گلوکزآمین در نسبت ۱:۱ افزایش می یابد. علت این امر شاید بدلیل تشکیل کمپلکس با گلوکزآمین و یا نمک آن مربوط باشد که بر میزان اتصال ایبوپروفن تاثیر گذار است. نتایج حاصل از مطالعات طیف DSC نیز موید مطالب فوق میباشد. مطابق نتایج بدست آمده، ایبوپروفن پیک اندوترمیک تیزی را در نقطه ۸۰ درجه سانتی گراد از خود نشان میدهد. مخلوط فیزیکی دارو با گلوکزآمین نیز در حوالی این نقطه پیک مشابهی را از خود نشان می دهد، ولی این پیک در مورد پودر تهیه شده بروش spray drying به حوالی نقطه ۷۸ درجه سانتی گراد منتقل شده بود که این امر می تواند موید تشکیل کمپلکس احتمالی دارو با گلوکزآمین در حالت محلول باشد.

مطابق نتایج بدست آمده از مطالعه ضریب پخش، logP (لگاریتم غلظت دارو در فاز اکتانول به غلظت دارو در فاز آبی) به ترتیب برابر ۱/ ۲ و ۹۲/ ۱ در مورد ایبوپروفن تنها و شکل ترکیبی ایبوپروفن با گلوکزآمین می باشد.
بنابراین زماني که گلوکزآمین به محلول ایبوپروفن اضافه می شود توزیع آن را به طرف فاز آبی افزایش می دهد. این پدیده بویژه در فرآیند نفوذپذیری دارو از غشا بسیار مهم می باشد.

۵- نتیجه گیری

با توجه به موارد ذکر شده بطور کلی می توان نتیجه گیری کرد که گلوکزآمین محلولیت و سرعت انحلال ایبوپروفن را افزایش می دهد. نیز گلوکزآمین در نسبتهای ۱:۱ و یا بالاتر می تواند اثرات بارزی بر میزان اتصال پروتئینی ایبوپروفن داشته باشد. پیک مربوط به نقطه ذوب ایبوپروفن در ترموگرام DSC در حالت ترکیبی با گلوکزآمین دچار شیفت می شود که فرضیه احتمال تشکیل کمپلکس بین دارو و گلوکزآمین را تقویت می کند. کاهش ضریب توزیع دارو بین اکتانول و آب در حالت ترکیبی دارو با گلوکز می تواند فرضیه قبلی را تایید نماید. در کل یافته های فوق می تواند راهنمای خوبی برای توجیه نتایج بدست آمده از مطالعات بالینی ذکر شده باشد.

6- References:

1. Kisaliogalu M. SA., Khan M. A., Blount C., Goettsch R. W., and Bolton S. Physical characterization and dissolution properties of ibuprofen:eudragit coprecipitates, Journal of Pharmaceutical Sciences, 1991, 80 (8): 799-804.
2. Rainsford K.D. Ibuprofen: A critical bibliographic review, Taylor & Francis, 2000, 56.
3. Tallarida, R.J., Cowan A., Raffa R.B. Antinociceptive synergy, additivity, and subadditivity with combinations of oral glucosamine plus nonopioid analgesics in mice. J. Pharmacol. Exp. Ther., 2003, 307 (2): 699-704.
4. Ruane R., Griffiths P. Glucosamine therapy compared to ibuprofen for joint pain. Br. J. Community Nurs. 2002, Mar, 7 (3): 148-52.
5. Muller-Fassbender H., Bach G.L., Haase W., Rovati L.C., Setnikar I. Glucosamine sulfate compared to ibuprofen in osteoarthritis of the knee, Osteoarthritis Cartilage. 1994 Mar, 2 (1): 61-9.
6. Thie N.M., Prasad N.G., and Major P.W. Evaluation of glucosamine sulfate compared to ibuprofen for the treatment of temporomandibular joint osteoarthritis: a randomized double blind controlled 3 month clinical trial, J Rheumatol. 2001 Jun, 28 (6): 1347-55.
7. Glasxo Smith Kline Company (unpublished data).