Міністерство охорони здоров’я України
Національний фармацевтичний університет

ДАВІШНЯ НАТАЛІЯ ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 615.262.1:616.721-001.7:615.454:547.459.5

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ КОМБІНОВАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ГЛЮКОЗАМІНУ З КЕТОПРОФЕНОМ У ФОРМІ КРЕМ-ГЕЛЮ ПРИ ОСТЕОАРТРИТІ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі клінічної фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету МОЗ України, м. Харків.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України
ЗУПАНЕЦЬ Ігор Альбертович,
Національний фармацевтичний університет
МОЗ України (м. Харків),
завідувач кафедри клінічної фармакології
та клінічної фармації

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
МАРЧИШИН Світлана Михайлівна,
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний
університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України»
завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою

доктор фармацевтичних наук, професор
СИРОВА Ганна Олегівна,
Харківський національний медичний університет
МОЗ України
завідувач кафедри медичної та біоорганічної хімії

Захист відбудеться «27» травня 2016 р. о 12.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий « 26 » квітня 2016 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради
д. фарм. н., професор Т. С. Сахарова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Сьогодні в ревматологічній практиці остеоартроз або, за номенклатурою Європейської антиревматичної ліги, остеоартрит (ОА) класифікують як хронічне дегенеративно-дистрофічне захворювання суглобів, що характеризується прогресуючою деструкцією суглобового хряща, проліферативною реакцією хрящової і кісткової тканин і супроводжується реактивним синовіїтом (В. Н. Коваленко, О. П. Борткевич, 2010; L. Fernandes et al., 2013).

Це захворювання є одним з найпоширеніших у структурі патології опорно-рухової системи. За статистикою ВООЗ, 9,6 % чоловіків і 18,0 % жінок у віці від 60 років страждають від ОА (Department of Chronic Diseases and Health Promotion, WHO, 2015). Згідно зі статистичними даними ВООЗ, найчастіше причинами інвалідності у літньому віці є деменція, ослаблення слуху та ОА (World Health Organization, 2015). Збитки, пов'язані із ОА, зросли за останні роки і становлять від 0,5 до 2,5 % валового національного доходу таких розвинених країн світу, як США, Канада, країни Євросоюзу та Австралія (O. Bruyère, J. Reginster, 2009; M. Hiligsmann et. al., 2013; J. Puig-Junoy, A. R. Zamora, 2015).

За всесвітньо визнаними нормами для лікування ОА раціонально використовувати препарати, які коригують метаболізм суглобового хряща: симптоматичні препарати уповільненої дії (хондропротектори) та препарати, що впливають на суглобовий синдром: анальгетики, нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП), місцевозігріваючі засоби (наказ МОЗ України від 12.10.06 № 676; M. C. Hochberg et al., 2012; T. E. McAlindony et al., 2014). Особливу увагу привертають комбінації вищеперерахованих груп, оскільки вони дозволяють поєднати позитивний вплив на метаболізм суглобового хряща та протеогліканову недостатність із корекцією больового синдрому (W. Zhang et al., 2007; І. А. Зупанець, С. К. Шебеко, 2010). Саме біль є однією з головних причин зниження якості життя хворих, які страждають на ОА (В. Ю. Приходько, 2012). Однією із вдалих вважається комбінація НПЗП та солей глюкозаміну, що обумовлює не тільки хондромодулюючу дію, але й потенційовані протизапальні і анальгетичні властивості НПЗП, разом із поліпшенням переносимості НПЗП та зменшенням ризику розвитку їх побічної дії (R. J. Tallarida et al., 2003; С. Б. Попов і співавт., 2007; Н. А. Корж и соавт., 2007; І. А. Зупанець, С. К. Шебеко, 2010). Важливу роль у лікуванні ОА відіграє раціональний вибір лікарської форми, оскільки пацієнти при цій патології потребують тривалого використання лікарських засобів, що не завжди можливо при застосуванні препаратів системної дії (L. L. Jorge et al., 2011). Окрім того, ОА частіше зустрічається у пацієнтів похилого віку, що, як правило, мають супутні захворювання і приймають препарати для їх лікування, які можуть призвести до небажаної лікарської взаємодії (Л. И. Алексеева, Н. Г. Кашеварова, 2008; С. С. Дубовская, 2011; В. Ю. Худобин и соавт., 2013). Топічний спосіб застосування ліків з пластично-пружно-в'язким дисперсійним середовищем дозволяє забезпечити максимальну концентрацію лікарських речовин безпосередньо в осередку нанесення при незначній системній дії (L. L. Jorge et al., 2011).

Сьогодні на фармацевтичному ринку України перелік топічних лікарських засобів, що містять компоненти хондромодулюючої дії, є обмеженим і представлений, переважно, монопрепаратами хондроїтину сульфату (В. Н. Коваленко 2015).

Отже, з огляду на вищевикладене актуальною є розробка, фармакологічне дослідження і впровадження у клінічну практику топічних комбінованих засобів, що містять НПЗП і хондропротектори, для підвищення ефективності лікування хворих на ОА.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана за планом науково-дослідної роботи (НДР) Національного фармацевтичного університету, затвердженим МОЗ України, і є частиною НДР «Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування в медичній практиці» № держреєстрації 0103U000478 (2003-2013 р.) та «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів», № держреєстрації 0114U000956 (2014-2018 р.), в яких автор є співвиконавцем.

Мета і задачі дослідження. *Мета* роботи – експериментальне обґрунтування комбінованого застосування глюкозаміну з кетопрофеном у топічних лікарських формах для оптимізації медикаментозної терапії остеоартриту.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі *задачі*:

1. Провести попереднє дослідження анальгетичних, протизапальних і токсикологічних властивостей різних зразків комбінацій глюкозаміну гідрохлориду з кетопрофеном у формах гелю та крем-гелю для обґрунтування складу нової досліджуваної комбінації.
2. Дослідити вплив обраної перспективної комбінації глюкозаміну гідрохлориду з кетопрофеном у топічній формі на індуковану больову реакцію за умов розвитку запальної гіперальгезії у щурів.
3. Проаналізувати вплив перспективного зразка топічної комбінації на спонтанну больову реакцію у щурів з гострим гонартритом.
4. Вивчити антиексудативну, антиальтеративну й антипроліферативну дію перспективної комбінації глюкозаміну гідрохлориду з кетопрофеном у топічній формі.
5. Дослідити хондропротекторні властивості перспективної комбінації у топічній формі на тлі розвитку системного стероїдного артрозу у щурів.
6. Провести клініко-економічне дослідження частоти застосування хондропротекторів у топічних лікарських формах та аналіз якості життя хворих на остеоартрит.

Об'єкт дослідження – дегенеративно-дистрофічні та запально-деструктивні захворювання суглобів.

Предмет дослідження – хондропротекторні, анальгетичні, протизапальні властивості нової оригінальної комбінації глюкозаміну гідрохлориду з кетопрофеном у формі крем-гелю.

Методи дослідження. При виконанні роботи були використані фармакологічні, біологічні, біохімічні, гістоморфологічні методи дослідження та методи математичної статистики.

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертаційній роботі вперше визначено напрямки пошуку та критерії створення нових високоефективних топічних засобів хондропротекторної та протизапальної дії шляхом комбінування похідних глюкозаміну й НПЗП у топічних лікарських формах на крем-гелевих основах.

Отримано нові дані про доцільність комбінованого застосування глюкозаміну гідрохлориду (ГА г/х) із кетопрофеном у формі крем-гелю (Г/К крем-гель). Встанов-

лено оптимальне співвідношення ГА г/х та кетопрофену 2,5:1, яке обумовлює виражені анальгетичну (55,1%) та протизапальну (50,4%) активності перспективної комбінації.

Уточнено наукові дані про вплив комбінації ГА г/х та кетопрофену у топічній формі на перебіг різних типів больових реакцій. На моделі запальної гіперальгезії доведено виражену анальгетичну активність при її застосуванні, виразність якої вірогідно перевищує аналогічні показники препаратів порівняння Фастум гель (у 1,2 разу) та Хондроксид (у 2,5 разу). Досліджувана комбінація проявляє виражений анальгетичний вплив на розвиток спонтанної больової реакції у щурів. Показник її анальгетичної активності на 5 добу експерименту був вірогідно більшим ніж показники препаратів порівняння Фастум гель (у 1,5 разу) та Хондроксид (у 3 рази).

Розширено наукові поняття про модифікацію протизапальних властивостей НПЗП та хондропротекторів при комбінованому застосуванні у топічних формах.
Так комбінація Г/К крем-гель має виражену антиальтеративну (87,4%) та антиексудативну (55,0 %), а також виявляє помірну антипроліферативну активність (33,4 %), що дозволяє їй збалансовано впливати на перебіг запальних процесів.

Розширені наукові уявлення щодо посилення хондропротекторних властивостей комбінацій НПЗП та хондропротекторів у топічних формах. Показано, що застосування Г/К крем-гелю приводить до зниження рівня хондроїтинсульфатів – на 23,6 %, глікопротеїнів – на 26,6 %, сіалових кислот – на 22,0 %, суми глікозаміногліканів – на 19,5 %, та підвищення рівня вільного N-ацетилглюкозаміну на 37,2 % у сироватці крові щурів з системним стероїдним артрозом, порівняно з групою контрольної патології.

Доповнено наукові дані про клініко-економічне дослідження частоти застосування топічних препаратів для лікування ОА, що показало значну прихильність хворих до препаратів місцевої дії (42,0%), а вивчення якості життя пацієнтів за опитувальником EuroQol-5D довело її достовірне підвищення саме при комбінованому застосуванні топічних НПЗП та хондропротекторів.

Практичне значення одержаних результатів. Результати роботи є фрагментом доклінічного вивчення комбінованого препарату глюкозаміну гідрохлориду та кетопрофену у формі крем-гелю (звіт про НДР «Доклінічне дослідження хондропротекторних властивостей препарату «Глюкокет» (крем-гель) на моделі системного стероїдного артрозу у щурів»). Отримано дозвіл на проведення І фази клінічних досліджень препарату «Фламакс® Плюс» (глюкозамін+кетопрофен) (дозвіл на проведення клінічних досліджень № 484 від 01.08.2013 р.). Результати дисертаційної роботи довели позитивний вплив цієї комбінації на перебіг експериментального ОА та підтвердили її виражені хондропротекторні, анальгетичні та протизапальні властивості, що обумовлює перспективність її впровадження в клінічну практику для оптимізації медикаментозного лікування хворих на ОА.

Запропоновано спосіб комбінованого застосування засобів хондропротекторної та протизапальної дії в топічних формах (інформаційний лист МОЗ України № 74–2015, 2015 р.).

Результати роботи впроваджено в науково-педагогічний процес кафедр фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (протокол № 8 від 08.02.2016 р.), фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол № 6 від

09.03.2016 р.), фармакології та медичної рецептури Харківського національного медичного університету (протокол № 13 від 11.02.2016 р.).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота була виконана на кафедрі клінічної фармакології та клінічної фармації НФаУ. Разом з науковим керівником визначені мета і завдання дослідження, розроблені методичні підходи, згідно з якими відібрані моделі та методи для виконання експериментальної частини дисертації. Особисто проведені: патентно-інформаційний пошук, аналіз даних літератури за темою дисертації, експериментальні дослідження, статистична обробка, аналіз і систематизація отриманих результатів, сформульовані висновки дисертації. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантом наведено результати власних експериментальних досліджень, взята участь в аналізі та узагальненні отриманих даних, написанні статей.

Електронно-мікроскопічні дослідження проведені на базі лабораторії патоморфології з групою електронної мікроскопії ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор´єва НАМН України», морфологічні дослідження – на базі лабораторії лікарської та промислової токсикології ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції». Дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на: V-й науково-практичній конференції «Фармакоекономіка в Україні: стан і перспективи розвитку» (Харків, 2012); Національному конгресі «Клінічна фармація: 20 років в Україні» (Харків, 2013); 5-й науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2013); II-й Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Приоритеты фармации и стоматологии: от теории к практике» (Алматы, 2013); V Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених і студентів «Біологічні дослідження – 2014» (Житомир, 2014); DIA 2014 50th Annual Meeting (Сан-Диєго, 2014); Другій міжнародній конференції молодих вчених та студентів «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (Шымкент, 2014); Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Topical issues of new drugs development» (Харків, 2015); дистанційній науково-практичній конференції студентів та молодих учених «Инновации в медицине и фармации – 2015» (Минск, 2015), Міжнародній науково-практичній конференції «Новая наука, проблемы и перспективы» (Стерлитамак, 2015).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 19 наукових праць: 8 статей у фахових виданнях, рекомендованих МОН України (в тому числі 3 зарубіжні), 10 тез доповідей, видано 1 інформаційний лист МОЗ України.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів досліджень, п’яти розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів досліджень, висновків і списку використаних джерел. Загальний обсяг дисертації складає 205 сторінок друкованого тексту, робота містить 27 таблиць і 65 рисунків, а також 202 джерело літератури, з них 109 – кирилицею, 93 – латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. На етапі скринінгового дослідження об’єктами стали монокомпонентні зразки кетопрофену з концентрацією 2,0 та 2,5 % у формі гелю та крем-гелю, а також зразки комбінацій з концентрацією кетопрофену 2,0 % та ГА г/х 2,5, 5,0, та 10,0% у формі крем-гелів.

Фармацевтична розробка досліджуваних об’єктів здійснена доктором фармацевтичних наук, заслуженим науковим консультантом ДНУ «Науково-технологічний комплекс «Інститут монокристалів» Національної академії наук України», професором М. О. Ляпуновим.

За результатами попередніх досліджень було обрано нову оригінальну комбінацію ГА г/х із кетопрофеном, співвідношенням 2,5:1, у формі крем-гелю. Як препарати порівняння у дослідженнях використовували: Фастум гель («Berlin-Chemie AG», Німеччина), що має гелеву основу і містить 2,5 % кетопрофену; Хондроксид (ВАТ «Ніжфарм», Російська Федерація), що має гелеву основу і містить 5 % хондроїтин сульфату; крем-гель ГА г/х (ГА) 5 %, що має основу аналогічну, досліджуваній комбінації. Комплексні дослідження було виконано відповідно до вимог ДЕЦ МОЗ України про доклінічну практику (А. В. Стефанов і співавт., 2001) (рис. 1).

Фармакологічні дослідження проведені на 539 білих безпородних щурах обох статей. Усі піддослідні тварини утримувались у віварії ЦНДЛ НФаУ (посвідчення ДЕЦ МОЗ України № 21 від 30.04.2009 р.) згідно зі стандартними санітарними нормами на необхідному харчовому раціоні. Усі дослідження проводились відповідно до Директиви Ради ЄС 86/609 ЄЄС від 24 листопада 1986 р. про дотримання законів, постанов і адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, що використовуються з експериментальною та іншою науковою метою (Страсбург, 1986). Комісією з питань біоетики НФаУ не виявлено порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи (протокол № 12 від 17.12.2014 р.).

Для підбору комбінації з раціональним співвідношенням ГА г/х та кетопрофену було проведено скринінгове дослідження анальгетичної активності (АА), протизапальних властивостей об’єктів з дозуванням 25 мг/см^2, яке визначали у попередніх дослідженнях. Після чого було вивчено гостру токсичність перспективної за попередніми дослідженнями комбінації.

На першому етапі порівняльне дослідження АА різних комбінацій ГА г/х із кетопрофеном у топічній формі проводили за умов розвитку індукованої больової реакції (А. В. Стефанов і співавт., 2001). Інтенсивність больових відчуттів визначали за методом Рендалла-Селітто (L. O. Randall, J. J. Selitto, 1957) з використанням анальгезиметра Ugo Basile 37215 («Ugo Basile», Італія). Запальну гіперальгезію відтворювали на правій задній лапі тварин шляхом субплантарного уведення у стопу 0,1 мл 1 % розчину λ-карагеніну («Sigma», США).

Вивчення протизапальних властивостей різних зразків комбінацій ГА г/х із кетопрофеном у топічних формах було проведено на моделі карагенінового запалення стопи у щурів, яке викликали шляхом субплантарного уведення у праву задню лапу 0,1 мл 1 % розчину λ-карагеніну («Sigma», США). Об'єм кінцівок вимірювали до початку дослідження та через 3 год після уведення флогогену з використанням цифрового плетизмометра («IITC Life Science», США).

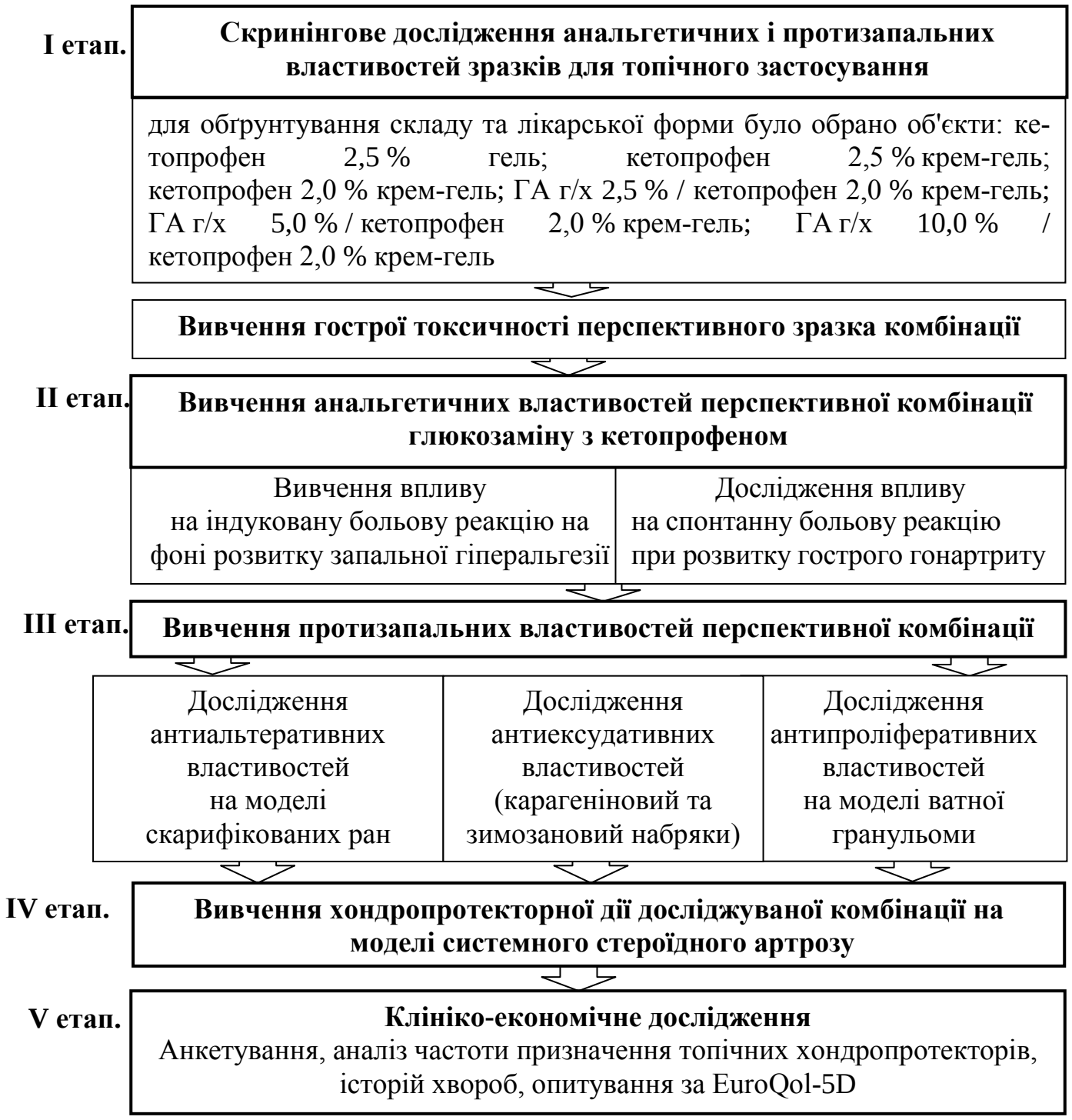

Рис. 1. Етапи експериментального дослідження

Гостру токсичність перспективної комбінації у формі крем-гелю досліджено як при нашкірному нанесенні, так і при внутрішньошлунковому уведенні (А. В. Стефанов і співавт., 2001; Л. В. Яковлєва і співавт., 2008)

При нашкірному нанесенні препарат дозували від 43 до 22600 мг/кг (А. В. Стефанов і співавт., 2001).

Дослідження гострої токсичності при внутрішньошлунковому уведенні було проведено за методикою Т. В. Пастушенко (Т. В. Пастушенко і співавт., 1985). Досліджуваний об’єкт уводили в діапазоні доз від 500 до 5000 мг/кг (А. В. Стефанов і співавт., 2001).

На наступних етапах дослідження проводили поглиблене вивчення анальгетичних, протизапальних властивостей і хондропротекторної дії найперспективнішої комбінації ГА г/х 2,5 % з кетопрофеном.

На другому етапі було досліджено АА комбінації Г/К крем-гель на моделях запальної гіперальгезії та гострого гонартриту у щурів. Вплив Г/К крем-гелю та препаратів порівняння в дозі 25 мг/см^2 на розвиток індукованої больової реакції визначали за наведеним вище методом Рендалла-Селітто (L. O. Randall, J. J. Selitto, 1957). Дослідження впливу обраної комбінації на перебіг спонтанної больової реакції проводили за умов розвитку гострого експериментального гонартриту, який моделювали шляхом внутрішньосуглобового уведення 25 мкл 2 % розчину λ-карагеніну («Sigma», США) (C. Valenti et al., 2010). Інтенсивність спонтанної больової реакції вимірювали станом на 5 год після відтворення патології і далі на 3 та 5 добу, за 30 хв і через 1 год після нанесення досліджуваних препаратів у дозі 25 мг/см^2, за допомогою «тестера інвалідності» – «Incapacitance Tester MkV» («Linton Instrumentation», Великобританія) (E. Y. Kissin et al., 2005; J. J. Inglis et al., 2008; C. Cialdai et al., 2009).

Третім етапом дисертаційного дослідження стало вивчення впливу комбінації Г/К крем-гель на фази запального процесу. Антиексудативну активність (АЕА) комбінації досліджували за умов розвитку експериментального асептичного запалення стопи, викликаного субплантарним уведенням різних флогогенів: 0,1 мл 1 % розчину λ-карагеніну («Sigma», США); 0,1 мл 2 % суспензії зимозану («Sigma», США) (А. В. Стефанов і співавт., 2001). Об'єм набряку стопи вимірювали до початку експерименту, а також в динаміці через 0,5, 1, 2 і 3 год після уведення агентів з використанням цифрового плетизмометра («IITC Life Science», США). Антиальтеративні властивості досліджуваної комбінації вивчали на моделі скарифікованих ран у щурів (А. В. Стефанов і співавт., 2001). Ефективність оцінювали за показниками швидкості загоєння ран, часу повного рубцювання та антиальтеративної активності (ААА). Антипроліферативну активність (АПА) комбінації Г/К крем-гель досліджували на моделі «ватної» гранульоми у щурів (А. В. Стефанов і співавт., 2001).

На четвертому етапі дисертаційного дослідження хондропротекторні властивості Г/К крем-гелю було вивчено на моделі системного стероїдного артрозу (ССА) у щурів, який відтворювали шляхом триразового внутрішньом'язового уведення у м'яз стегна дексаметазону в разовій дозі 7 мг/кг з інтервалом 1 тиждень згідно з методичними рекомендаціями (И. А. Зупанец и соавт., 1999) у модифікації (К. О. Зупанець і співавт., 2010; В. Ф. Усенко і співавт., 2011). Хондропротекторний вплив препаратів оцінювали на 56 добу за допомогою біохімічних показників (вміст сіалових кислот (СК) у сироватці крові за методом Гесса (В. С. Камышников, 2003), глікопротеїнів (ГП) за методом Штейнберга-Доценко (А. И. Карпищенко, 2013), хондроїтинсульфатів (ХС) – за Л. І. Слуцьким (В. І. Левченко і співавт., 2004), загальної суми і фракцій глікозаміногліканів (ГАГ) за методом М. Р. Штерна (М. Р. Штерн, і співавт., 1982) у модифікації (Ф. С. Леонтьєва і співавт., 2007); а також вміст ендогенного N-ацетилглюкозаміну (N-ацГА) у сироватці крові (загальна, вільна і зв'язана фракції) і тканинах суглобового хряща (І. А. Зупанець, С. К. Шебеко, 2005) гісто- та ультраструктури суглобового хряща. Гістологічні дослідження структури суглобового хряща здійснювали за допомогою стандартних ме-

тодів світлової мікроскопії (Ю. И. Афанасьев, 2013), під мікроскопом БІМАМ Р-12 (ВО «ЛОМО», Росія) з системою цифрового виведення зображень мікропрепаратів Nikon Coolpix E4500 (Японія). Дослідження ультраструктури суглобового хряща щурів проводили за допомогою стандартних методів електронної мікроскопії (С. Л. Кузнецов, Н. Н. Мушкамбаров, 2007), в електронному мікроскопі ЕМ-125 (Сумське ВО «Електрон», Україна).

На п'ятому етапі було проведено дослідження частоти призначення топічних хондропротекторів, схильності пацієнтів до їх прийому за допомогою анкетування та аналізу історій хвороб. Визначено якість життя пацієнтів з використанням опитування EuroQol-5D (EuroQol Group, 2013). На підставі історій хвороб і складеної анкети було проаналізовано дані 45 хворих на ОА у стаціонарі та 30 амбулаторних хворих в ДУ «Інститут проблем патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України». Статистичну обробку даних отриманих у всіх дослідженнях проводили методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента і непараметричних методів аналізу (Mann-Whitney U Test) за допомогою комп'ютерних програм STATISTICA 6.0 і StatPlus (О. Ю. Реброва, 2006; Д. А. Клюшин, 2007).

Результати та їх обговорення. На етапі скринінгового дослідженя доведено, що оптимальною формою для топічного препарату є форма крем-гелю, оскільки вона характеризується вищим рівнем АА і ПЗА для зразків, що містять 2,5 % кетопрофену. Оптимальна концентрація кетопрофену становила 2,0 %, оскільки за показниками АА і ПЗА зразок цієї концентрації статистично не поступається зразку з 2,5 % кетопрофену (табл. 1). Раціональним співвідношенням ГА г/х і кетопрофену є 2,5:1, оскільки цей зразок за показниками АА та ПЗА статистично переважає комбінацію, що містить 2,5 % ГА г/х, і не поступається зразку, що містить 10,0 % ГА г/х.

Таблиця 1

Порівняльне дослідження анальгетичної та протизапальної активності різних комбінацій глюкозаміну з кетопрофеном у топічних лікарських формах (n = 120)

Об'єкт дослідження	АА, %	ПЗА, %
Патологія +кетопрофен 2,5 % гель	36,7±2,4	35,5±1,8
Патологія +кетопрофен 2,5 % крем-гель	45,8±2,7[1]	43,4±2,9[1]
Патологія +кетопрофен 2,0 % крем-гель	42,2±3,3	40,4±2,5
Патологія +ГА г/х 2,5 % / кетопрофен 2,0 % крем-гель	46,1±3,1[1]	44,6±2,2[1]
Патологія +ГА г/х 5,0 % / кетопрофен 2,0 % крем-гель	55,1±2,9[1,2,3,4]	50,4±1,6[1,2,3]
Патологія +ГА г/х 10,0 % / кетопрофен 2,0 % крем-гель	56,8±3,3[1,2,3,4]	54,6±1,4[1,2,3,4]

Примітки:

1. [1] – $p < 0,05$ відносно тварин, що отримували кетопрофен 2,5 % гель;
2. [2] – $p < 0,05$ відносно тварин, що отримували кетопрофен 2,5 % крем-гель;
3. [3] – $p < 0,05$ відносно тварин, що отримували кетопрофен 2,0 % крем-гель;
4. [4] – $p < 0,05$ відносно тварин, що отримували ГА г/х 2,5 % / кетопрофен 2,0 % крем-гель;
5. n – загальна кількість тварин у дослідженні.

Дослідження гострої токсичності обраної комбінації при нашкірному нанесенні показало, що її $ЛД_{50}$ – понад 22 600 мг/кг, що свідчить про високу безпеку застосування, крім того, не зафіксовані подразнення чи висипання на шкірному покриві щурів. За результатами дослідження системної гострої токсичності не було зареєстровано загибелі щурів при внутрішньошлунковому однократному уведенні досліджуваного об'єкта в інтервалі доз 500 – 5000 мг/кг протягом 14 діб. Отримані дані дають змогу віднести комбінацію за класифікацією К. К. Сидорова (1973), що рекомендована ДЕЦ МОЗ України, до VI класу токсичності – відносно нешкідливі речовини.

Проведено поглиблене вивчення анальгетичних властивостей комбінації ГА г/х із кетопрофеном у формі крем-гелю за умов розвитку індукованої та спонтанної больової реакції у щурів (рис. 2).

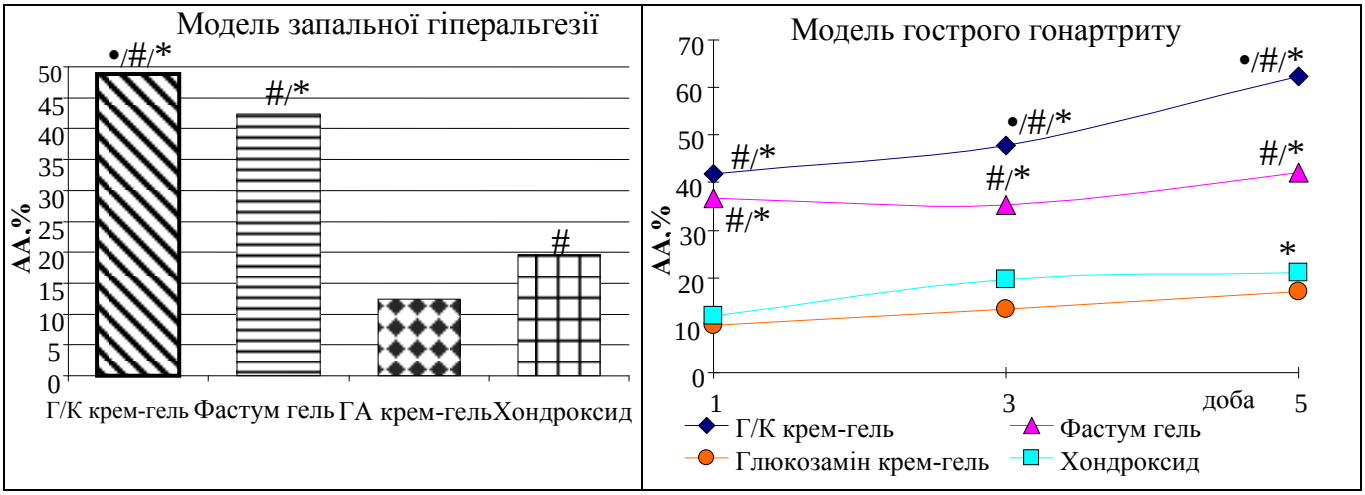

Рис. 2. Показники анальгетичної активності комбінації Г/К крем-гель за умов розвитку індукованої та спонтанної больової реакції.

Примітки (тут та на рис. 3):

1. • – достовірність відносно тварин, що отримували Фастум гель ($p < 0,05$);
2. # – достовірність відносно тварин, що отримували ГА крем-гель ($p < 0,05$);
3. * – достовірність відносно тварин, що отримували Хондроксид ($p < 0,05$).

Доведено виражений анальгетичний вплив досліджуваної комбінації, АА якої становила 48,8 %, що вірогідно перевищувало рівень показників препаратів порівняння (Фастум гель у 1,2 разу, ГА крем-гель у 3,9 разу, Хондроксид у 2,5 разу).

Результати дослідження впливу Г/К крем-гелю на інтенсивність спонтанної больової реакції свідчать, що ця комбінація виявляє найвищу АА у щурів з гострим гонартритом (станом на 1 добу – 41,8 %, на 3 добу – 47,9 % та на 5 добу – 62,2 %), показники якої були достовірно більшими за АА препаратів порівняння. Збільшення рівня АА Г/К крем-гелю пояснюється не тільки потенціювальним впливом його повторних нанесень, але й зменшенням спонтанних больових відчуттів тварин унаслідок згасання патофізіологічних проявів гострого гонартриту. Отримані результати зумовлені синергізмом АА при комбінуванні хондропротекторів і НПЗП (І. А. Зупанець, С. К. Шебеко, 2010).

Вивчено вплив комбінації Г/К крем-гель на різні стадії запального процесу. За умов активації ЦОГ-опосередкованої ланки запалення на моделі карагенінового на-

бряку стопи у щурів було доведено, що комбінація Г/К крем-гель достовірно знижувала ступінь набряклості з першого періоду спостереження (рис. 3). На 3-тю год дослідження показник АЕА Г/К крем-гелю достовірно перевищував не тільки показники ГА крем-гелю (у 2,2 разу) і Хондроксиду (у 2,9 разу), а й препарату порівняння Фастум гель (у 1,4 разу).

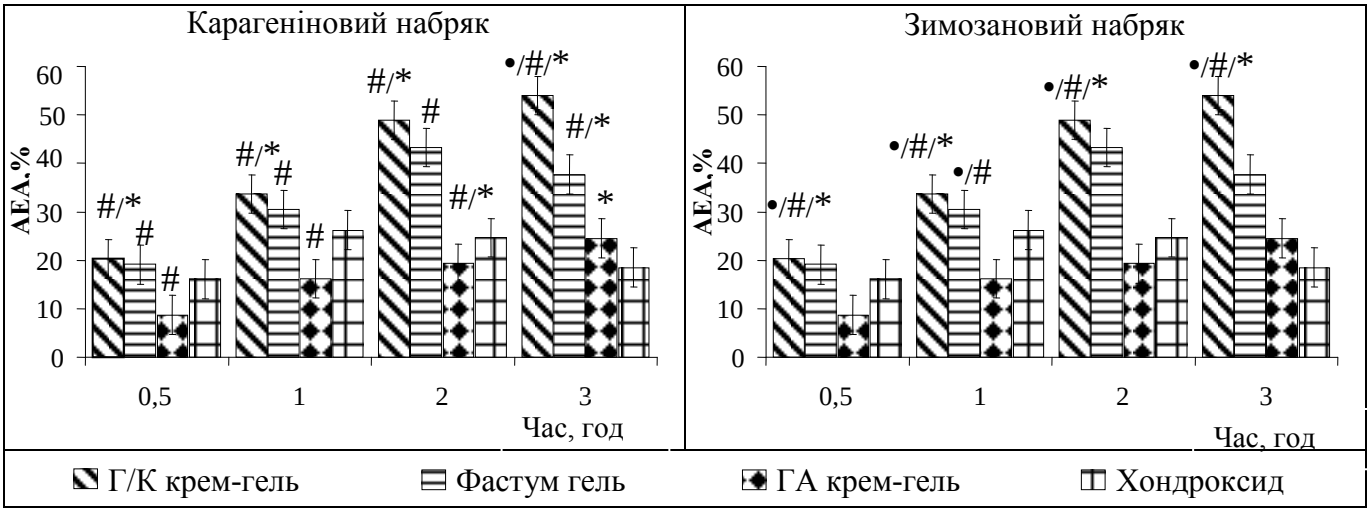

Рис. 3. Вплив препарату Г/К крем-гель на розвиток ексудативного запалення.

Високий рівень показників АЕА комбінації Г/К крем-гель пояснюється не тільки наявністю в її складі кетопрофену, але і ГА г/х, якому притаманні певні протизапальні властивості (має мембранопротекторну дію, інгібує активність лізосомальних ферментів), за рахунок чого ця субстанція потенціює протизапальні властивості класичних НПЗП (В. О. Туляков, 2009). Відмічено, що об’єкти з ГА г/х мали тенденцію до зростання АЕА на 3-тю год досліду на відміну від показників препарату Фастум гель. Пролонгація протизапальної дії кетопрофену у складі Г/К крем-гелю підтверджується отриманими результатами, що відображають максимальну активність і пік АЕА на 3-тю год спостережень, при наявності піка монокомпонентного Фастум гелю на 2-у год та зменшенні його АЕА на 3-тю.

Г/К крем-гель чинив інгібувальний вплив на перебіг лейкотриєнзумовленого запалення, що проходить при активації ліпооксигеназного шляху. Найвищий показник АЕА Г/К крем-гелю був відмічений на 2 год дослідження і становив 46,0 %, (вірогідно більше у 2,6 разу від Фастум гелю, у 1,9 разу – ГА крем-гелю та у 2,2 разу – Хондроксиду). Наведені вище дані свідчать про виражений антиексудативний вплив Г/К крем-гелю при різних механізмах розвитку запального процесу.

Вивчення антиальтеративних властивостей Г/К крем-гелю проводили на моделі скарифікованих ран у щурів (рис. 4). Повна епітелізація в контрольній групі та в групі тварин, яких лікували Фастум гелем відбувалася на 21-у добу; у групі тварин, що одержували Г/К крем-гель – на 13-ту добу; ГА крем-гель – на 11-ту добу; Хондроксид – на 17-ту добу експерименту. При розрахунку показників швидкості загоєння ран досліджувана комбінація Г/К крем-гель перевищувала показники групи контрольної патології в 1,3 разу, а Фастум гель у 1,2 разу. ААА комбінації Г/К крем-гель була досить високою протягом усього дослідження (на 3-тю добу – 10,6 %, на 5-ту – 21,7 %, на 7-му – 32,2 %, на 9-ту – 59,4 %, на 11-ту – 87,4 %).

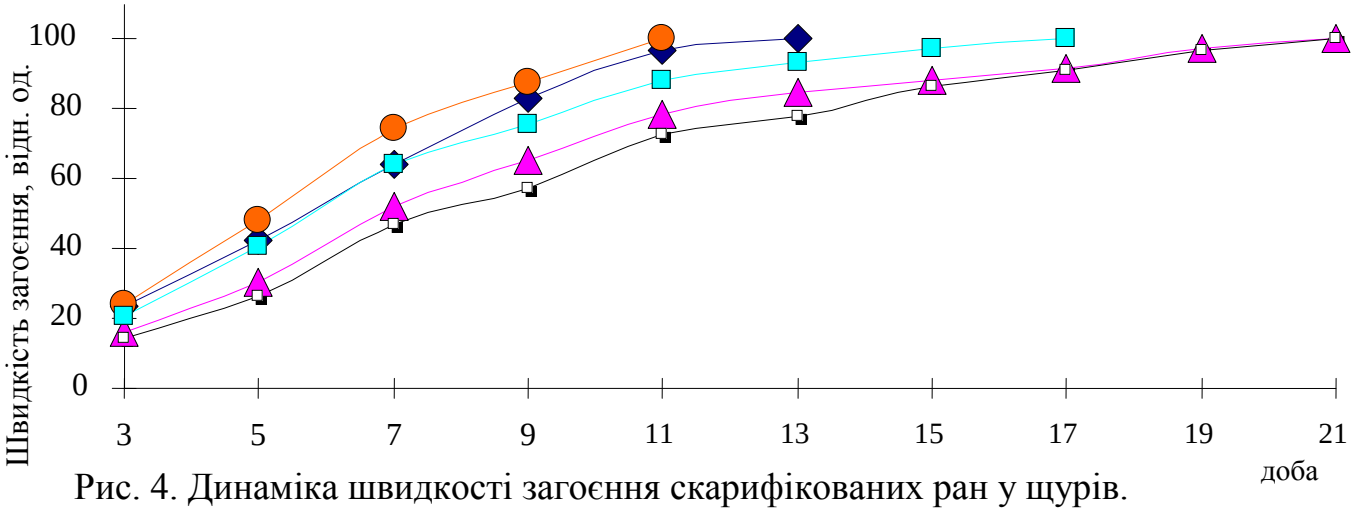

Рис. 4. Динаміка швидкості загоєння скарифікованих ран у щурів.

Примітка. Г\К крем-гель; Хондроксид; Фастум-гель; Контроль ГА крем-гель

При дослідженні АПА комбінації Г/К крем-гель і препаратів порівняння на моделі «ватної» гранульоми у щурів найвищу АПА мав препарат Фастум гель (табл. 2). Тому що, як «класичний» НПЗП, він інгібує розвиток проліферативних процесів шляхом пригнічення біосинтезу колагену (І. І. Іглицький, 2012).

Таблиця 2

Антипроліферативна активність комбінації Г/К крем-гель на моделі «ватної» гранульоми у щурів (n = 50)

Дослідна група	Маса грануляційної тканини, мг	АПА, %
Контрольна патологія	39,1±1,4	—
Патологія +Г/К крем-гель	26,0±1,0$^{**/•/*}$	33,4±1,2$^{\#/*}$
Патологія +Фастум гель	22,9±0,9$^{**/\#/*}$	41,4±1,6$^{\#/*}$
Патологія +ГА крем-гель	28,8±1,4$^{**/•}$	26,3±1,3*
Патологія +Хондроксид	32,0±0,7$^{**/•}$	18,0±0,4

Примітки (тут, в табл. 3 та на рис. 5 і 6):

1. • – достовірність відносно тварин, що отримували Фастум гель ($p < 0,05$);
2. # – достовірність відносно тварин, що отримували ГА крем-гель ($p < 0,05$);
3. * – достовірність відносно тварин, що отримували Хондроксид ($p < 0,05$);
4. ** – достовірність відносно тварин групи контрольної патології ($p < 0,05$);
5. n – загальна кількість тварин у дослідженні.

Проте дані проведеного експерименту показали, що всі препарати чинили певний вплив на процеси проліферації, що підтверджувалося достовірним зростанням показників пригнічення утворення грануляційної тканини у порівнянні зі щурами групи контрольної патології. Так, АПА препаратів склала: Г/К крем-гель – 33,4 %, Фастум гель – 41,4 %, ГА крем-гель – 26,3 %, Хондроксид – 18,0 %. Показники АПА досліджуваної комбінації хоч і були достовірно нижчими за аналогічні показники Фастум гелю, проте достовірно перевищували показники тварин, що отримували ГА крем-гель у 1,3 разу і Хондроксид у 1,9 разу, що свідчить про помірний рівень її АПА.

Аналізуючи дані досліджень впливу комбінації на різні фази запального процесу, можна зробити висновок, що Г/К крем-гель завдяки поєднанню хондропротектора (ГА), з високою антиальтеративною і антиексудативною дією та НПЗП (кетопрофену) з високою антипроліферативною дією, дозволяє модифікувати властивості цих лікарських засобів та отримати препарат, який за результатами досліджень показав досить високу АЕА та ААА і помірну АПА, що дозволяє йому збалансовано впливати на перебіг фаз запального процесу (С. Б. Попов і співавт., 2007).

На наступному етапі було досліджено хондропротекторні властивості комбінації Г/К крем-гель на моделі ССА у щурів. Під впливом досліджуваної комбінації спостерігалося помірне зниження вмісту всіх маркерів обміну сполучної тканини у сироватці крові щурів (рис. 5).

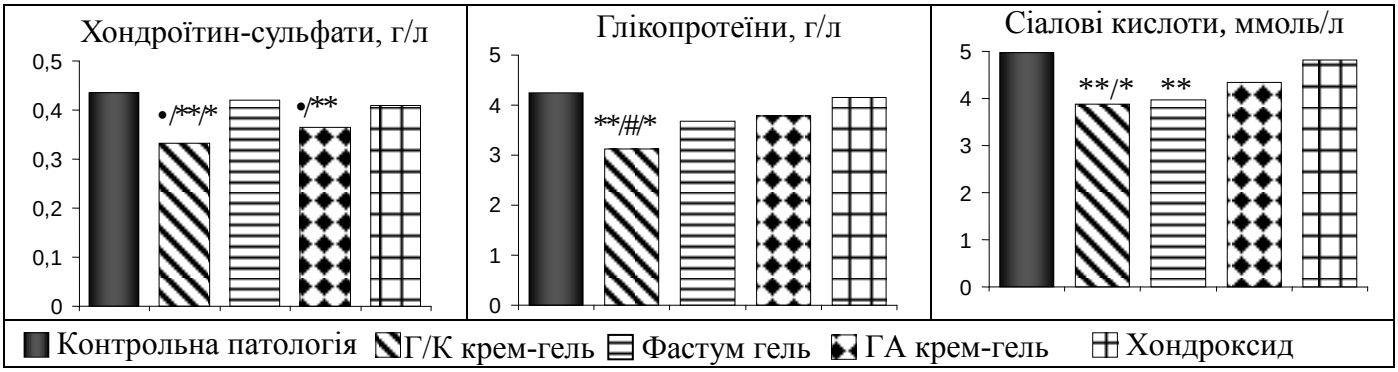

Рис. 5. Вміст основних метаболітів сполучної тканини у сироватці крові щурів з експериментальним остеоартритом на 56 добу дослідження.

Дослідження показали, що рівень ХС знижувався на 23,6 %, ГП – на 26,6 %, СК – на 22 %, спостерігалося помірне зниження загальної суми ГАГ на 19,5 %, у порівнянні з контрольною патологією, не тільки за рахунок зменшення хондроїтин-4-сульфатів на 30,0 %, але і за рахунок зменшення фракції хондроїтин-6-сульфатів, вміст яких знижувався на 22,5 % (рис. 6).

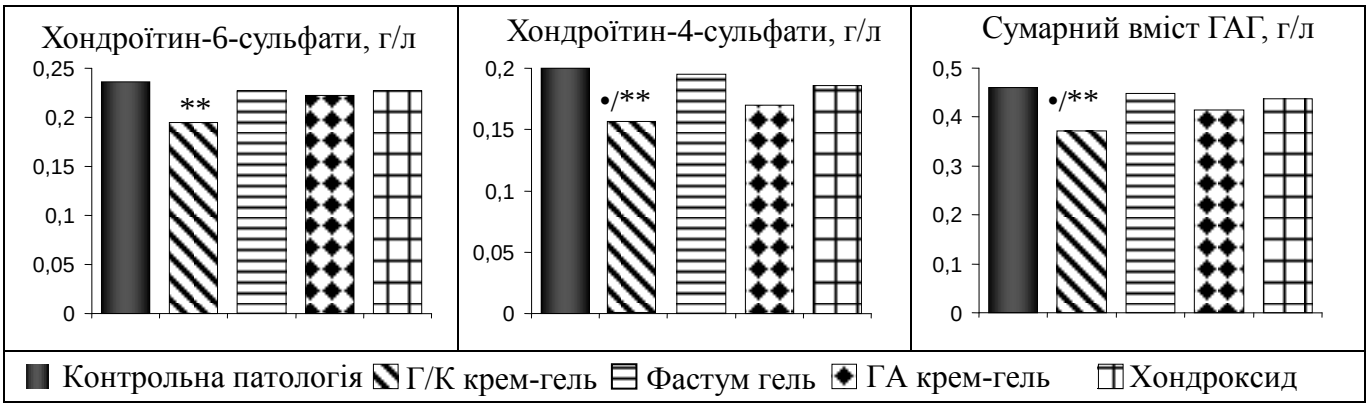

Рис. 6. Фракційний склад глікозаміногліканів у сироватці крові щурів із системним стероїдним артрозом на 56 добу дослідження.

За ступенем впливу на рівень ГП Г/К крем-гель вірогідно перевищував показники ГА крем-гелю, за впливом на ХС достовірно відрізнявся від Фастум гелю, а за показниками ХС, ГП та СК від Хондроксиду. Це пояснюється поєднаним взаємопо-

тенціювальним впливом компонентів Г/К крем-гелю на маркери обміну сполучної тканини. В ході дослідження хондропротекторної активності були вивчені показники обміну ендогенного N-ацГА у щурів із ССА під впливом комбінації Г/К крем-гель та препаратів порівняння (табл. 3).

Таблиця 3

Показники обміну ендогенного N-ацетилглюкозаміну у щурів з експериментальним остеоартритом (n = 50)

Умови досліду	Вміст ендогенного N-ацетилглюкозаміну			
	сироватка крові, ммоль/л			Суглобовий хрящ, мг/г
	загальний	зв'язаний	вільний	
Інтактний контроль	7,13±0,50	5,20±0,33	1,93±0,19	0,220±0,014
Контрольна патологія	7,89±0,57	6,79±0,49$	1,10±0,08$	0,147±0,013 $
Патологія+Г/К крем-гель	7,15±0,45	5,64±0,37	1,51±0,10**/•/*	0,217±0,019**/•/*
Патологія+Фастум гель	7,74±0,46	6,60±0,39$	1,14±0,10$	0,152±0,010$
Патологія+ГА крем-гель	7,35±0,48	5,95±0,39	1,40±0,09**	0,212±0,014**/•
Патологія+Хондроксид	7,60±0,47	6,57±0,58$	1,04±0,15 $	0,165±0,015 $

Примітка. $ – $p < 0,05$ відносно інтактних тварин

При застосуванні Г/К крем-гелю рівень вільного N-ацГА зріс на 37,2 % у порівнянні з нелікованими тваринами, що, в свою чергу, свідчить про збільшення регенераторного потенціалу хряща (І. А. Зупанець і співавт., 2007). Представлена картина підтверджується результатами аналізу вмісту N-ацГА хрящової тканини, де рівень гексозаміну достовірно перевищував показники групи контрольної патології (у 1,4 разу), Фастум гелю (у 1,4 разу), Хондроксиду (у 1,3 разу).

При морфологічному дослідженні впливу Г/К крем-гелю на структуру суглобових тканин відмічено зменшення патоморфологічних проявів ССА (рис. 7 в).

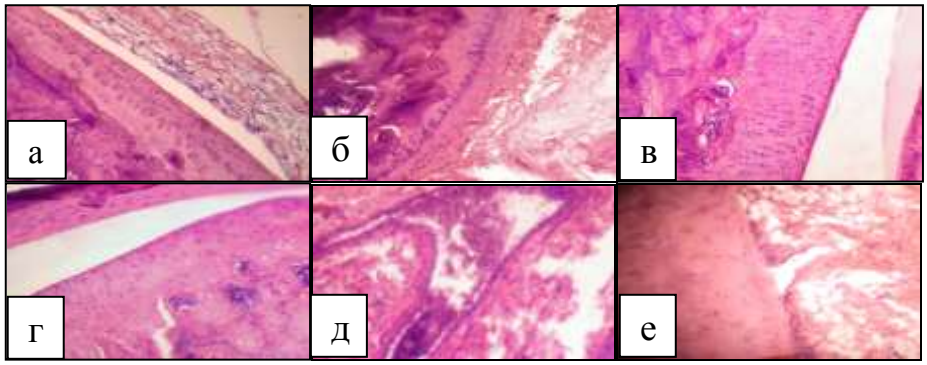

Рис. 7. Гістоструктура суглобових тканин щурів на 56 добу дослідження:
а – інтактний контроль, б – контрольна патологія; в – Г/К крем-гель; г – ГА крем-гель; д – Фастум гель; е – Хондроксид. Гематоксилін-еозин. х 150.

Поверхня хряща стала рівнішою, без ознак розволокнення, забарвлення матриксу більш рівномірне, стан цитоархітектоніки нормалізувався (рис. 7 в), на відміну від групи контрольної патології не спостерігалося формування пануса (рис. 7 б), проліферації синовіальних клітин, осередків клітинної інфільтрації в м'язові ткани-

ни. За системою напівкількісної оцінки тканин суглобів Г/К крем-гель достовірно перевищував показники не тільки групи контрольної патології (у 1,5 разу), але й тварин, які отримували Фастум гель (у 1,3 разу) та Хондроксид (у 1,2 разу).

Результати дослідження ультраструктури суглобового хряща під впливом Г/К крем-гелю свідчать про зменшення проявів патологічних процесів у порівнянні з групою контрольної патології: у більшості клітин спостерігається ядро неправильної витягнутої форми з високим вмістом еухроматину, а також вузька цитоплазма з органелами (рис. 8 в). На відміну від групи контрольної патології (рис. 8 б) та препаратів порівняння (рис. 8 д,е) не відмічено «темних» клітин з ознаками класичного хондроптозу, матрикс мав рівномірну електронну щільність.

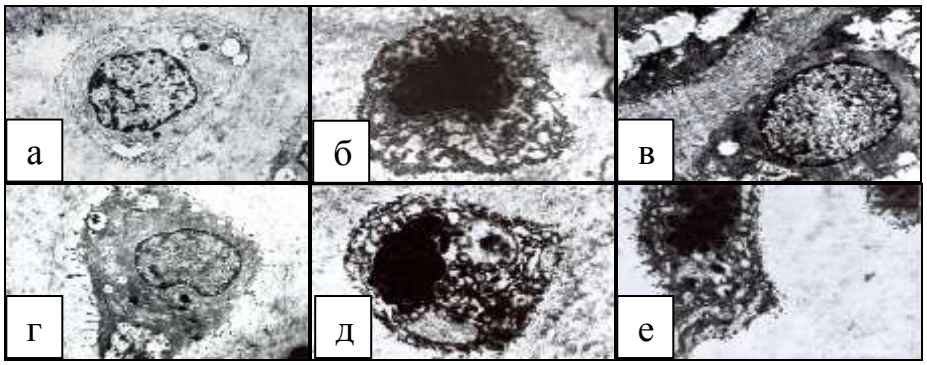

Рис. 8. Ультраструктура суглобових тканин щурів на 56 добу дослідження: а – інтактний контроль, б – контрольна патологія; в – Г/К крем-гель; г – ГА крем-гель; д – Фастум гель; е – Хондроксид. х 12000

Отже, за сукупністю результатів досліджень біохімічних показників, гістологічної та ультраструктурної картини можна зробити висновок, що досліджувана комбінація виявляє виражену хондропротекторну дію та може достовірно впливати на дегенеративно-дистрофічні та запально-деструктивні процеси в суглобовому хрящі.

Клініко-економічне дослідження частоти застосування топічних препаратів для лікування ОА з використанням аналізу листків призначень та анкетування показало, що хондропротектори в різних лікарських формах призначають 100,0% пацієнтів, в незалежності від стадії ОА. Топічні хондропротектори застосовують переважно для хворих з I та II стадією ОА, а загальна частота їх призначення складає 20,0%.

Серед призначень хондропротекторів переважали ін’єкційний препарат «Дона» (82,0 %), капсули «Терафлекс» або комбінований препарат «Терафлекс Адванс» (74,1 %), гель або мазь «Хондроксид» (66,7 %).

Результати проведеного анкетування засвідчили таке: 1) 91,1 % пацієнтів епізодично самостійно приймали хондропротекторні препарати; 2) відзначено значну кількість хворих на ОА (42,0 %), які надають перевагу препаратам місцевої дії. Вивчення якості життя пацієнтів за опитувальником EuroQol-5D довело її достовірне підвищення (до 87 балів) саме при комбінованому застосуванні НПЗП і хондропротекторів у топічних формах. Отже, можна зазначити, що дослідження та розробка нового комбінованого препарату для лікування ОА, що містить ГА г/х і кетопрофен у вигляді крем-гелю, є актуальним питанням з погляду, як практичної медицини, так і кінцевого споживача – пацієнта.

ВИСНОВКИ

Остеоартрит є одним з найпоширеніших захворювань у структурі патології опорно-рухової системи, яке призводить до інвалідизації, втрати працездатності та значних економічних витрат. Найважливішими його симптомами вважають біль та порушення функціонального стану суглобів, тому основою раціонального лікування є комбіноване застосування НПЗП і хондропротекторів, що обумовлює вплив як на метаболізм суглобового хряща, так і на больовий синдром. При цьому використання препаратів є тривалим і частим, що не завжди можливо для засобів системної дії.

Отже, актуальним є розробка та експериментальне вивчення комбінованих препаратів у топічних лікарських формах для лікування остеоартриту.

У дисертації теоретично та експериментально обґрунтовано доцільність комбінованого застосування глюкозаміну гідрохлориду та кетопрофену у формі крем-гелю для оптимізації терапії дегенеративно-дистрофічних і запально-деструктивних захворювань суглобів, зокрема остеоартриту.

1. За результатами порівняльного дослідження анальгетичних і протизапальних властивостей різних комбінацій глюкозаміну з кетопрофеном у топічних лікарських формах було обрано комбінацію глюкозаміну гідрохлориду 5 % та кетопрофену 2 % у формі крем-гелю, яка характеризується вираженою анальгетичною (55,1 %) і протизапальною активністю (50,4 %) та оптимальним співвідношенням «концентрація діючих речовин – фармакологічний ефект». За результатами дослідження гострої токсичності при нашкірному нанесенні та системної токсичності цей об’єкт було віднесено до VI класу токсичності – відносно нешкідливі речовини.

2. Результати дослідження анальгетичних властивостей комбінації глюкозаміну гідрохлориду з кетопрофеном у формі крем-гелю за умов розвитку індукованої больової реакції у щурів показали, що вона виявляє виражену анальгетичну активність (48,8 %), за ступенем якої вірогідно перевищує рівень всіх препаратів порівняння (Фастум гель у 1,2 разу, ГА крем-гель у 3,9 разу, Хондроксид у 2,5 разу).

3. За умов розвитку гострого гонартриту досліджувана комбінація чинила виражений анальгетичний вплив на спонтанну больову реакцію, про що свідчить значне збільшення показників анальгетичної активності: станом на 1 добу – 41,8 %, на 3 добу – 47,9 % та на 5 добу – 62,2 %. При цьому за виразністю анальгетичної дії на 5 добу експерименту комбінація, вірогідно перевищувала активність препаратів порівняння Фастум гель (у 1,5 разу) та Хондроксид (у 3 рази).

4. Результати вивчення протизапальних властивостей комбінації свідчать, що завдяки поєднанню глюкозаміну гідрохлориду з кетопрофеном в одній лікарській формі отримано препарат з модифікованими властивостями, що має досить високу антиальтеративну активність (87,4 %), вагомий вплив на ексудативний процес (антиексудативна активність на моделях карагенінового та зимозанового набряку складає 54,0 % та 46,0 % відповідно), та помірну антипроліферативну активність (33,4 %).

5. Досліджувана комбінація проявляє виражені хондропротекторні властивості за умов розвитку експериментального остеоартриту, що підтверджується зниженням рівня біохімічних показників у сироватці крові щурів: хондроїтинсульфатів – на 23,6 %, глікопротеїнів – на 26,6 %, сіалових кислот – на 22,0 %, суми глікозаміногліканів – на 19,5 %, та підвищенням рівня вільного N-ацетилглюкозаміну на

37,2 %. При цьому спостерігалась нормалізація гістологічної та ультраструктурної картин суглобових тканин, без виражених патологічних змін та «темних» клітин з ознаками хондроптозу.

6. Клініко-економічне дослідження частоти застосування хондропротекторів свідчить, що більшість пацієнтів (91,1 %) принаймні раз у житті приймали ці засоби. Значна частина пацієнтів (42,0 %) надавала перевагу використанню топічної лікарської форми. Комбінування НПЗП і хондропротекторів чинить значний позитивний вплив на якість життя пацієнтів, що доведено при використанні опитувальника EuroQol-5D: якість життя пацієнтів достовірно підвищувалася до 87 балів ($p < 0,05$) тільки під час комбінованого застосування цих засобів.

7. Результати проведених досліджень обґрунтовують доцільність подальшого експериментального вивчення комбінацій хондропротекторів з НПЗП у топічних лікарських формах з метою широкого впровадження у клінічну практику як препаратів, що застосовуються для лікування дегенеративно-дистрофічних та запально-деструктивних захворювань суглобів.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Давішня Н. В. Морфологічне вивчення хондропротекторних властивостей комбінації глюкозаміну з кетопрофеном у формі крем-гелю / Н. В. Давішня, І. А. Зупанець, С. К. Шебеко // Український біофармацевтичний журнал. – 2014. – № 3 (32). – С. 30-34 *(особистий внесок: участь в експерименті, підготовка статті).*

2. Фармакоепідеміологічне дослідження частоти застосування хондропротекторів у топічних лікарських формах при остеоартрозі / Н. В. Давішня, І. А. Зупанець, С. К. Шебеко, В. В. Пропіснова // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2014. – № 6 (38). – С. 25-28 *(особистий внесок здобувача: участь в експерименті, підготовка статті).*

3. The influence of glucosamine and ketoprofen combination in the form of cream-gel on connective tissue metabolism indicators of rats with experimental osteoarthritis / N. V. Davishnia, I. A. Zupanets, S. K. Shebeko, M. O. Lyapunov // The Pharma Innovation Journal. – 2015. – Vol. 3 (12). – P. 8-11 Режим доступу до журн. – URL: http://www.thepharmajournal.com/archives/year=2015&vol3&issue12&partA *(особистий внесок здобувача: участь в експерименті, підготовка статті).*

4. Вивчення впливу комбінації глюкозаміну з кетопрофеном у формі крем-гелю на експериментально індуковану больову реакцію / Н. В. Давішня, І. А. Зупанець, С. К. Шебеко, М. О. Ляпунов // Ліки України плюс. – 2015. – № 2 (23). – С. 74-76 *(особистий внесок здобувача: участь в експерименті, підготовка статті).*

5. Давишняя Н. В. Экспериментальное изучение влияния комбинации глюкозамина с кетопрофеном в форме крем-геля на ультраструктуру суставного хряща / Н. В. Давишняя, И. А. Зупанец, С. К. Шебеко // Вестник фармации. – 2015. – № 2 (68). – С. 50-56 *(особистий внесок: участь в експерименті, підготовка статті).*

6. Давішня Н. В. Дослідження впливу комбінації глюкозаміну з кетопрофеном у формі крем-гелю на спонтанну больову реакцію в щурів / Н. В. Давішня, І. А. Зупанець, С. К. Шебеко // Фармацевтичний часопис. – 2015. – № 2 (34). – С. 90-93 *(особистий внесок здобувача: участь в експерименті, підготовка статті).*

7. Давішня Н. В. Раціональна терапія остеоартрозу: перспективи застосування комбінованих хондропротекторів у топічних лікарських формах / Н. В. Давішня, І. А. Зупанець, С. К. Шебеко // Клінічна фармація. – 2015. – Т. 19, № 3. – С. 17-21 *(особистий внесок здобувача: участь в експерименті, підготовка статті).*
8. Давишняя Н. В. Исследование антиальтеративных и антипролиферативных свойств комбинации глюкозамина с кетопрофеном в форме крем-геля / Н. В. Давишняя, И. А. Зупанец, С. К. Шебеко // Рецепт. – 2015. – № 5 (103). – С. 77-84 *(особистий внесок здобувача: участь в експерименті, підготовка статті).*
9. Зупанець І. А. Фармакоепідеміологічне дослідження застосування комбінованих топічних хондропротекторів при остеоартрозі / І. А. Зупанець, Н. В. Давішня // Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку : матеріали V науково-практичної конференції, м. Харків, 13-14 грудня 2012 р. – Харків, 2012. – С. 165-167.
10. Зупанець І. А. Доклінічне вивчення хондропротекторної ефективності композиції глюкозаміну з кетопрофеном у вигляді м’якої лікарської форми / І. А. Зупанець, С. К. Шебеко, Н. В. Давішня // Клінічна фармація: 20 років в Україні : матеріали Національного конгресу, м. Харків, 21-22 березня 2013 р. – Харків, 2013. – С. 125-126.
11. Давішня Н. В. Вплив глюкозаміну з кетопрофеном у м`якій лікарській формі на біохімічні показники щурів за умов розвитку експериментального артрозу / Н. В. Давішня // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали 5-ї науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Тернопіль, 27-28 вересня 2013 р. – Тернопіль, 2013. – С. 351-352.
12. Давишняя Н. В. Изучение влияния комбинации глюкозамина и кетопрофена в форме крем-геля на морфоструктуру хряща / Н. В. Давишняя, И. А. Зупанец, С. К. Шебеко // Приоритеты фармации и стоматологии: от теории к практике : сборник материалов II научно-практической конференции с международным участием, г. Алматы, 27 ноября 2013 г. – Алматы, 2013. – С. 23-24.
13. Давішня Н. В. Вплив комбінації глюкозаміну з кетопрофеном на показники обміну ендогенного N-ацетилглюкозаміну у щурів з експериментальним артрозом / Н. В. Давішня, І. А. Зупанець, С. К. Шебеко // Біологічні дослідження – 2014 : збірник наукових праць V Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених і студентів, м. Житомир, 4-5 березня 2014 р. – Житомир, 2014. – С. 323-324.
14. Davishnia N. Experimental conditions of creating a new topical remedy containing glucosamine and ketoprofen / N. Davishnia // DIA 2014 50th Annual Meeting Student Poster : Abstracts Therapeutic Innovation & Regulatory Science. – 2014. – N 48 (4). – P. 510.
15. Давишняя Н. В. Ультраструктурное исследование влияния комбинации глюкозамина с кетопрофеном в форме крем-геля на процессы хондроптоза суставного хряща крыс с остеоартрозом / Н. В. Давишняя, И. А. Зупанец, С. К. Шебеко // Перспективы развития биологии, медицины и фармации : материалы второй международной научной конференции молодых ученых и студентов, Республика Казахстан, г. Шымкент, 9-10 декабря 2014 г. – Шымкент, 2014. – С. 183-185.
16. The influence of glucosamine derivatives on apoptosis of cells in experiments / K. V. Vetrova, N. V. Davishnya, T. S. Sakharova, S. K. Shebeko // Topical issues of new drugs

development : abstracts of international scientific and practical conference of young Scientists and Student, Kharkiv, 23 April 2015. – Kharkiv, 2015. – P. 393-394.
17. Давишняя Н. В. Влияние комбинации глюкозамина с кетопрофеном в форме крем-геля на альтеративную и пролиферативную фазы воспалительной реакции / Н. В. Давишняя, И. А. Зупанец, С. К. Шебеко // Инновации в медицине и фармации 2015 : Материалы дистанционной научно-практической конференции студентов и молодых ученых, г. Минск, сентябрь-октябрь 2015 г. – Минск, 2015. – С. 839-842.
18. Давишняя Н. В. Изучение влияния различных комбинаций глюкозамина с кетопрофеном в топических формах на экспериментально индуцированную болевую реакцию / Н. В. Давишняя, И. А. Зупанец, С. К. Шебеко // Новая наука : проблемы и перспективы : материалы международной научно-практической конференции, г. Стерлитамак, 04 ноября 2015 г. – Стерлитамак, 2015. – С. 148-149.
19. Розробка ефективних засобів хондропротекторної та протизапальної дії для топічного застосування / І. А. Зупанець, М. О. Ляпунов, С. К. Шебеко, Н. В. Давішня // Інформ. лист № 74-2015. – Укрмедпатентінформ МОЗ України. – Випуск 1 з проблеми «Клінічна фармакологія та клінічна фармація ». – К., 2015. – 4 с. *(особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка інформаційного листа до видання).*

АНОТАЦІЯ

Давішня Н. В. Експериментальне обґрунтування комбінованого застосування глюкозаміну з кетопрофеном у формі крем-гелю при остеоартриті. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2016.

У дисертаційній роботі вперше проведено фармакологічне вивчення комбінації глюкозаміну гідрохлориду з кетопрофеном (2,5:1) у формі крем-гелю та експериментально обґрунтовано доцільність її застосування у терапії дегенеративно-дистрофічних та запально-деструктивних захворювань суглобів.

При скринінговому дослідженні анальгетичних і протизапальних властивостей різних зразків комбінацій глюкозаміну з кетопрофеном у топічних лікарських формах доведено, що оптимальний склад мала комбінація глюкозаміну 5 % / кетопрофену 2 % у формі крем-гелю.

На етапах поглибленого фармакологічного вивчення перспективної комбінації встановлено виражений анальгетичний вплив за умов запальної гіперальгезії та гострого гонартриту у щурів. Доведено високий антиальтеративний та антиексудативний вплив, а також помірну антипроліферативну активність досліджуваної комбінації, що дозволяє їй збалансовано впливати на перебіг запальних процесів.

Досліджено хондропротекторну дію на моделі системного стероїдного артрозу у щурів і доведено позитивний вплив на вміст біохімічних показників обміну сполучної тканини, гістологічну структуру суглобових тканин та ультраструктуру хряща.

Ключові слова: глюкозамін, кетопрофен, крем-гель, остеоартрит, анальгетична, протизапальна та хондропротекторна активність.

АННОТАЦИЯ

Давишняя Н. В. Экспериментальное обоснование комбинированного применения глюкозамина с кетопрофеном в форме крем-геля при остеоартрите. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2016.

В диссертационном исследовании впервые было проведено фармакологическое изучение комбинации глюкозамина гидрохлорида с кетопрофеном (2,5:1) в форме крем-геля (Г/К крем-гель) и экспериментально обоснована целесообразность его применения в терапии дегенеративно-дистрофических и воспалительно-деструктивных заболеваний суставов.

В ходе проведения скриниговых исследований анальгетических и противовоспалительных свойств различных комбинаций глюкозамина с кетопрофеном в топических лекарственных формах доказано, что оптимальный состав имеет комбинация глюкозамина 5 % / кетопрофена 2 % в форме крем-геля. Исследование острой токсичности при накожном нанесении и системном введении (при однократном внутрижелудочном введении) выбранной комбинации показало, что ее $ЛД_{50}$ составляет более 22600 мг / кг и 5000 мг / кг, что свидетельствует о высокой безопасности применения и позволяет отнести комбинацию, к VI классу токсичности – относительно безвредные вещества.

На этапах углубленного фармакологического изучения установлено выраженное анальгетическое влияние Г/К крем-геля при развитии воспалительной гиперальгезии и острого гонартрита у крыс. При воздействии Г/К крем-геля на индуцированную болевую реакцию его анальгетическая активность составляла 48,8 %, что достоверно превышало уровень аналогичных показателей препаратов сравнения Фастум гель в 1,2 раза, Хондроксид в 2,5 раза и объекта ГА крем-гель в 3,9 раза. Результаты исследования влияния комбинации Г/К крем-гель на интенсивность спонтанной болевой реакции показали, что данная комбинация проявляет наивысшую анальгетическую активность у крыс с острым гонартритом (по состоянию на 1 сутки – 41,8 %, на 3 сутки – 47,9 % и на 5 сутки – 62,2 %). Изучено влияние Г/К крем-геля на разные стадии воспалительного процесса (альтерацию, экссудацию и пролиферацию). В условиях активации ЦОГ-опосредованного звена воспаления на модели каррагенинового отека стопы у крыс было доказано, что комбинация Г/К крем-гель достоверно снижала степень отечности и превышала не только показатели объекта глюкозамин крем-гель (в 2,2 раза) и препарата Хондроксид (в 2,9 раза), но и препарата Фастум гель (в 1,4 раза). Комбинация Г/К крем-гель оказывала ингибирующее влияние на развитие лейкотриенобусловленого воспаления (модель зимозанового отека стопы у крыс), проходящего по активации липоксигеназного пути. При изучении антиальтеративных свойств Г/К крем-геля на модели скарифицированных ран у крыс было отмечено повышение показателей скорости заживления ран при использовании исследуемой комбинации.

На модели системного стероидного артроза у крыс доказано хондропротекторную активность комбинации Г/К крем-гель, что подтверждается снижением уровня биохимических показателей в сыворотке крови крыс: хондроитинсульфатов – на 23,6 %, гликопротеинов – на 26,6 %, сиаловых кислот – на 22,0 %, и повышени-

ем уровня свободного N-ацетилглюкозамина на 37,2 % по сравнению с контрольной патологией. При морфологическом исследовании влияния комбинации на структуру суставных тканей наблюдалась нормализация гистологической и ультраструктурной картины без выраженных патологических изменений и «темных» клеток с признаками хондроптоза. Показатель полуколичественной оценки суставного хряща Г/К крем-геля достоверно превышал показатели не только группы контрольной патологии (в 1,5 раза), но и животных, которые получали препараты Фастум гель (в 1,2 раза) и Хондроксид (в 1,5 раза).

Клинико-экономическое исследование частоты применения хондропротекторов свидетельствует, что большинство пациентов (91,1 %) хотя бы раз в жизни принимали данные препараты. Пациенты проявляли комплаентность к топическим лекарственным средствам (42,0 %). Комбинированное применение НПВП и хондропротекторов положительно влияет на качество жизни пациентов, что доказано в ходе опроса с использованием EuroQol-5D: качество жизни пациентов достоверно повышалось до 87 баллов ($p < 0,05$) только при комбинированном применении. Таким образом, результаты проведенных исследований обосновывают целесообразность дальнейшего экспериментального изучения комбинаций глюкозамина гидрохлорида с НПВП в тропических лекарственных формах с целью широкого внедрения в клиническую практику для лечения дегенеративно-дистрофических и воспалительно-деструктивных заболеваний суставов.

Ключевые слова: глюкозамин, кетопрофен, крем-гель, остеоартрит, анальгетическая, противовоспалительная и хондропротекторная активность.

SUMMARY

Davishnia N. V. Experimental substantiation of glucosamine and ketoprofen combined use in the form of a cream-gel for osteoarthritis treatment. - As a manuscript.

Thesis for Candidate degree in Pharmaceutical Studies. Speciality 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2016.

In the dissertation work the pharmacological study of glucosamine hydrochloride with ketoprofen combination (2.5:1) in the form of cream-gel was conducted for the first time. Firstly was performed and proved experimentally expediency of its use in the treatment of degenerative, inflammatory and destructive joint disease.

The comparative study of analgesic and anti-inflammatory properties of different combinations containing glucosamine and ketoprofen in topical dosage forms proved that the optimal composition of glucosamine was 5.0 % and ketoprofen 2.0 % in the form of a cream-gel.

At the advanced stages of the pharmacological study was established that chosen drug had distinct analgesic effect at conditions of inflammatory hyperalgesia and acute gonarthritis in rats. The high protective and antiexudative influence and moderate antiproliferative activity of the investigated combination have been proved, allowing a balanced to influence on inflammatory processes. Chondroprotective properties of the combination was studied at the model of systemic steroid arthritis in rats and proved a positive influence on the content of biochemical markers of connective tissue and histological structure and ultrastructure of articular cartilage tissue.

Key words: glucosamine, ketoprofen, cream-gel, osteoarthritis, analgesic, anti-inflammatory and chondroprotective activity.