Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

ЖУЛАЙ ТЕТЯНА СТАНІСЛАВІВНА

УДК 616.211:616.216:615.212.3:615.451.35:615.035.1:615.015.5

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ ЕНІСАМІУМУ ЙОДИДУ У ТОПІЧНІЙ ТЕРАПІЇ ГОСТРОГО РИНОСИНУСИТУ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Харків – 2020

Дисертацією є рукопис.
Робота виконана в Національному фармацевтичному університеті МОЗ України, м. Харків.

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

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
ЗАЙЧЕНКО Ганна Володимирівна,
Національний медичний університет
імені О.О. Богомольця МОЗ України (м. Київ)
завідувач кафедри фармакології

доктор медичних наук, професор
КРИЖНА Світлана Іванівна,
Харківська медична академія
післядипломної освіти МОЗ України (м. Харків),
професор кафедри клінічної патологічної
фізіології, топографічної анатомії
та оперативної хірургії

Захист відбудеться « » лютого 2021 р. о 13^{00} годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

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

Автореферат розісланий « » грудня 2020 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
д.фарм.н., професор К.Г. Щокіна

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Гострий риносинусит (ГРС) є широко розповсюдженим захворюванням та однією з найбільш частих причин звернення пацієнтів за медичною допомогою. За даними Центру медичної статистики МОЗ України (medstat.gov.ua, 15.04.2020), за 2019 рік хвороби органів дихання (J00-J99) складають майже 8% у структурі госпіталізованих хворих у стаціонарах України. Згідно з епідеміологічними даними, поширеність риносинуситу (РС) в світі становить у середньому 12% (J.H. Kwah et al., 2019; D.L. DeBoer et al., 2020). Головною причиною ГРС є вірусна інфекція: пусковий фактор для каскаду запальних реакцій, результатом яких є пошкодження слизової оболонки порожнини носа і придаткових пазух. Приблизно в 0,5-2% випадків вірусний ГРС ускладнюється бактеріальною інфекцією (D.L. DeBoer et al., 2020).

З 2016 р. набув чинності «Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги: гострий риносинусит» (наказ МОЗ України від 11.02.2016 № 85, але перелік лікарських препаратів для патогенетичної терапії ГРС є досить обмеженим. До цієї групи належать переважно рослинні препарати, основним недоліком яких є потенційний ризик розвитку алергічних реакцій. До того ж на фармацевтичному ринку України практично відсутні препарати для патогенетичного лікування ГРС в топічній лікарській формі (І.А. Зупанець та співавт., 2019; І.А. Зупанець та співавт., 2020; Т.С. Жулай та співавт., 2020). Тим часом застосування лікарських засобів саме у такій формі мало б низку переваг: простота прийому для пацієнтів, ефективність й безпека застосування для усунення та ослаблення основних симптомів ГРС (назальна обструкція, лицьовий біль); профілактика прогресування ГРС та розвитку його ускладнень (зокрема, профілактика активації бактеріальної інфекції); підвищення якості життя, зменшення економічних витрат на лікування як з боку держави, так і з боку пацієнта, що в цілому сприятиме підвищенню комплайенса.

Нашу увагу привернув Енісаміум йодид у новій оригінальній лікарській формі назального спрею, який містить водний розчин даної фармацевтичної субстанції, розроблений на АТ «Фармак» (Київ, Україна). ЕЙ є лікарським засобом з полівалентною фармакодинамікою, одним з показань до призначення якого є повітряно-крапельні інфекції верхніх дихальних шляхів. Тому застосування лікарської форми, що забезпечує доставку активної речовини до осередку проникнення патогенів, чинитиме пригнічувальний вплив вже на первинній ланці інфекційного запалення. У протизапальній дії ЕЙ наявний вплив як на простагландин-зумовлені, так і на лейкотрієн-зумовлені шляхи ексудативного запалення (Т.А. Бухтиарова, 1998; T.S. Zhulai, 2018), які реалізуються за рахунок стабілізації клітинних і лізосомальних мембран, уповільнення дегрануляції базофілів, антиоксидантної дії, нормалізації рівня простагландинів, циклічних нуклеотидів та енергетичного обміну в осередку запалення. Отже, наявність у ЕЙ впливу на лейкотрієнову ланку запалення може обумовити високу швидкість розвитку антиексудативної дії при інтраназальному (і/н) застосуванні. Це може бути корисним для патогенетичної терапії ГРС з урахуванням потенційного зменшення таких симптомів як назальна обструкція та лицьовий біль, тому що саме стан співустя верхньощелепних пазух призводить до розвитку певної клінічної форми ГРС.

Таким чином, вищенаведені дані свідчать про актуальність та доцільність фармакологічного вивчення нового препарату Енісаміуму йодиду у і/н лікарській формі для обґрунтування застосування в клінічній практиці у топічній терапії ГРС.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертацію виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету (НФаУ) МОЗ України у рамках теми «Фармакологічні дослідження біологічно-активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування у медичній практиці» (№ держреєстрації 0103U000478, 2003–2013 рр.) та «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (№ держреєстрації 0114U000956, 2014–2023 рр.).

Мета і завдання дослідження. *Мета* дослідження – експериментальне обґрунтування застосування Енісаміуму йодиду у формі назального спрею для оптимізації фармакотерапії гострого риносинуситу.

Для досягнення мети були поставлені такі *завдання*:

1. Провести дослідження гострої токсичності та місцевоподразнювальної дії тест-зразків Енісаміуму йодиду у формі назального спрею.
2. За результатами скринінгових досліджень протизапальної та аналгетичної активності визначити оптимальну концентрацію розчину Енісаміуму йодиду.
3. Дослідити вплив обраного тест-зразка Енісаміуму йодиду на ексудативну, альтеративну і проліферативну ланки запальної реакції.
4. Оцінити лікувальну ефективність Енісаміуму йодиду на експериментальних моделях ГРС у кролів на підставі лабораторних показників.
5. Провести дослідження впливу експериментальної терапії ГРС у кролів з використанням Енісаміуму йодиду на стан остіомеатального комплексу.
6. Здійснити гістоморфологічне дослідження впливу експериментальної терапії ГРС з використанням Енісаміуму йодиду на стан епітелію слизових оболонок носової порожнини та придаткових пазух носа.
7. Провести вивчення безпеки та переносимості Енісаміуму йодиду (спрей назальний) з ескалацією дози при топічному застосуванні у здорових добровольців при проведенні І фази клінічного дослідження.

Об'єкт дослідження: топічна фармакотерапія гострого риносинуситу.

Предмет дослідження: фармакологічні властивості Енісаміуму йодиду у формі спрею для інтраназального застосування, ефективність (терапевтична дія) при експериментальних риносинуситах різної етіології; безпека та переносимість у здорових добровольців.

Методи дослідження. Фармакологічні (моделювання карагенінового та зимозанового запалення стопи, карагенін-індукованої та зимозан-індукованої гіпералгезії, скарифікованих ран, «ватяної» гранульоми, хімічного та риногенного риносинуситу); токсикологічні (вивчення гострої токсичності, місцевоподразнювальної дії при і/н введенні та інстиляції в кон'юнктивальний мішок ока, вивчення впливу на нюхову функцію); гематологічні (клінічний аналіз крові з визначенням вмісту гемоглобіну, еритроцитів, колірного показника, лейкоцитів, ШОЕ, підрахунок лейкоцитарної формули; аналіз сечі тест-смужкою з визначенням питомої ваги, pH, нітритів, білка, глюкози, лейкоцитів, еритроцитів, гемоглобіну); біохімічні (АлАТ, АсАТ, білірубін загальний, креатинін, глюкоза крові); клініко-

інструментальні (оцінка переносимості та безпеки, риноскопія, назальна ендоскопія, електрокардіографічне дослідження, визначення артеріального тиску, пульсу, температури тіла); гістоморфологічні (гістоморфологічний аналіз слизової оболонки носової порожнини з використанням світлової мікроскопії); статистичні методи.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше теоретично та експериментально обґрунтовано нові наукові підходи до патогенетичного лікування ГРС, які полягають у застосуванні лікарського засобу місцевої дії у формі назального спрею, який містить відому фармацевтичну субстанцію з полівалентною фармакодинамікою (водний розчин Енісаміуму йодиду) та обумовлює пригнічення інфекційного запалення на первинній ланці його розвитку.

Розширено уявлення про вираженність протизапальної та аналгетичної дії Енісаміуму йодиду (спрей назальний) (ЕЙСН) в залежності від концентрації діючої речовини – нелінійний характер при дослідженому шляху введення та обраному діапазоні концентрацій: 5 мг/мл < 10 мг/мл > 20 мг/мл. Нова оригінальна лікарська форма назального спрею ЕЙСН у концентрації 10 мг/мл оцінена як засіб, що володіє достовірними протизапальними (35,3%) та аналгетичними (43,4%) властивостями при зовнішньому застосуванні ($p<0,05$).

Доповнено уявлення щодо фармакодинаміки Енісаміуму йодиду. Доведено, що ЕЙСН 10 мг/мл чинить вірогідну антиексудативну та аналгетичну дію, які є найбільш вираженими на 30 хвилину спостереження (18,6% та 23,7%, відповідно) ($p<0,05$), механізм розвитку яких полягає у переважному впливі на лейкотриеновий шлях реалізації запалення ($p<0,05$). Встановлено, що ЕЙСН 10 мг/мл має достовірно високу антиальтеративну активність у порівнянні з ібупрофеном (27,56%, та 18,6%, відповідно у середньому за весь термін спостереження) за ступенем якої перевершив препарат порівняння з 12 доби спостереження у 2,8 разу ($p<0,05$) та помірну антипроліферативну активність без тенденційних відмінностей (14,24%).

Поряд з вираженими протизапальними властивостями ЕЙСН характеризується високим профілем безпеки: належить до IV класу токсичності при і/н шляху введення (малотоксичні речовини; А.В. Стефанов, 2002); ЕЙСН 10 мг/мл не викликає місцевоподразнювальної дії та не призводить до зміни нюхової функції.

Вперше вивчено вплив ЕЙСН 10 мг/мл на перебіг експериментального риносинуситу (РС): хімічного РС, викликаного введенням флогогена (40% розчин натрію гідроксиду) та риногенного РС, викликаного тампонадою носової порожнини кролів. За динамікою маркерів запалення ЕЙСН при і/н застосуванні протягом 10 діб чинив вірогідний позитивний вплив на гематологічні показники (нормалізація лейкоцитарної формули, та зменшення ШОЕ у 1,9 разу при риногенному РС) ($p<0,05$), що підтверджено результатами назальної ендоскопії. За результатами напівкількісної бальної оцінки ендоскопічних параметрів у кролів з хімічним РС середня кількість балів у групі тварин, які отримували ЕЙСН, на 1 добу склала 4,5 (середньо-важкий РС), на 10 добу – 0,5 (фізіологічна норма), що свідчить про тенденційне перевершення ЕЙСН активності препарату порівняння BNO-101. За умов розвитку риногенного РС ЕЙСН чинив значущу терапевтичну дію, що підтверджено зміною стану остіомеатального комплексу (ОМК): середня кількість балів на 15 добу склала 7,0 (важкий РС), на 25 добу – 2,5 (легкий РС). Щодо динаміки стану співустя верхньощелепної пазухи (один із основних прогностичних предикторів розвитку

певної клінічної форми ГРС) середня кількість балів на 15 добу склала 2,0 (важкий РС) та на 25 добу – 0,0 (фізіологічна норма), що є вірогідно нижчим, ніж у групі тварин, яким вводили BNO-101 ($p<0,05$ у всіх випадках).

У ході проведених гістоморфологічних досліджень за результатами морфометричного вивчення зафіксовано вірогідне зниження щільності келихоподібних клітин (6,58 екз./мм^2) ($p<0,05$), середня кількість балів на 25 добу склала 1,5, що вірогідно менше ($p<0,05$), ніж у групі контрольної патології (КП) та свідчить про ефективність ЕЙСН при лікуванні РС. Доведено, що за цим показником Енісаміум йодид тенденційно перевершив активність препарату порівняння BNO-101 (2,0).

Вперше було проведено вивчення безпеки та переносимості ЕЙСН 10мг/мл з ескалацією дози у здорових добровольців при проведенні І фази клінічного дослідження (КД). Результати КД свідчать, що ЕЙСН 10 мг/мл не поступається плацебо за показником «локальна переносимість» та «безпека», а всі встановлені відмінності є статистично незначущими. ЕЙСН 10 мг/мл при і/н застосуванні з різними режимами дозування має добру локальну переносимість та безпеку.

Практичне значення отриманих результатів. У ході досліджень експериментально та клінічно обґрунтована доцільність застосування водного розчину ЕЙ 10 мг/мл у лікарській формі для топічного застосування – спрей назальний для підвищення ефективності та безпеки лікування ГРС. Отримані результати дозволяють рекомендувати застосування ЕЙСН 10 мг/мл для терапії ГРС та її оптимізації у рамках концепції прецизійної медицини.

Результати проведеного КД «Одноцентрове, рандомізоване, подвійне сліпе, плацебо-контрольоване клінічне дослідження з ескалацією дози по вивченню переносимості лікарського препарату «Енісаміум йодид, спрей назальний 10 мг / мл по 10 мл у флаконі» виробництва АТ «Фармак», Україна за участю здорових добровольців (І фаза)» (наказ МОЗ України № 248 від 09.03.2017, додаток 7), які свідчать про добру локальну переносимість та безпеку при різних режимах дозування, з'явилися передумовами для прийняття позитивного рішення що до проведення ІІ фази КД з перспективою впровадження ЕЙСН у клінічну практику. За результатами дисертаційної роботи досліджуваний лікарський засіб планується до впровадження у виробництво на АТ «Фармак» (акт впровадження від 16.05.2020).

Розроблено та запропоновано методичні підходи щодо оптимізації лікування ГРС з використанням нового назального спрею на основі Енісаміуму йодиду (інформаційний лист МОЗ України з проблеми «Клінічна фармакологія і клінічна фармація» №333-2018, 2018). У методичних рекомендаціях «Фармацевтична опіка пацієнтів при лікуванні гострого риносинуситу» (ЕПК «Клінічна фармакологія і клінічна фармація» МОЗ та НАМН України, протокол № 4 від 20.09.2018 та протокол № 2 від 30.09.2019) запропоновані нові підходи до фармацевтичної опіки пацієнтів з ГРС, в тому числі встановлені перспективи використання ЕЙСН 10 мг/мл.

Результати дисертаційної роботи впроваджено у лікувальний процес КНП «Міська клінічна лікарня №30» Харківської міської ради (акт впровадження від 13.04.2020), у науково-педагогічний процес кафедр: фармакології та клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол № 8 від 13.03.2020), фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (протокол № 6 від 03.12.2019), клінічної фармації, фармакотерапії та

УЕФ факультету післядипломної освіти Запорізького державного медичного університету МОЗ України (протокол № 3 від 05.02.2020), фармакології та медичної рецептури Харківського національного медичного університету (протокол № 16 від 28.02.2020), фармакології Буковинського державного медичного університету (протокол № 9 від 11.02.2020).

Особистий внесок здобувача. Автором особисто здійснені патентно-інформаційний пошук, аналіз даних літератури за темою дисертації, експериментальні дослідження, участь у клінічному дослідженні, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, сформульовані висновки дисертації та запропоновані практичні рекомендації. Разом з науковим керівником визначено мету та завдання дослідження, обрано методичні підходи, згідно з якими відібрані моделі та методи для виконання експериментальної та клінічної частини дисертаційної роботи й опубліковано сумісні наукові праці. Співавторами статей є науковий керівник І.А. Зупанець та фахівці, які брали участь у виконанні окремих досліджень: С.К. Шебеко, І.А. Отрішко, Т.С. Сахарова, Н.П. Безугла, К.Є. Ямпольська, Д.Б. Гладких. Особистий внесок дисертанта конкретизовано у списку опублікованих праць за темою дисертації.

Біохімічні та гематологічні дослідження були виконані на базі Лабораторії клінічної діагностики Клініко-діагностичного центру НФаУ. Гістоморфологічні дослідження були проведені на базі кафедри гістології, цитології та ембріології Харківського національного медичного університету при консультативній допомозі к. біол. н., доц. Т.В. Дєєвої. Дисертант вдячний всім науковцям за співпрацю, методичну та консультативну допомогу.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи оприлюднені та обговорені на науково-практичних конференціях та конгресах: IX Всеукраїнська науково-практична конференція «Сучасні аспекти клінічної фармакології на тлі досягнень доказової медицини» (Вінниця, 16-17 листопада 2017); 27th Congress of the European Rhinologic Society (London, UK, 22-26 April 2018); Науково-практична конференція «25 років діяльності Державного експертного центр: уроки минулого, погляд в майбутнє (Київ, 05-06 жовтня 2017); Конференція Українського наукового медичного товариства лікарів-отоларингологів «Сучасні досягнення в отоларингології» (Львів, 1-2 жовтня 2018); International Conference on Pharmaceutical Drug Discovery & Advanced Drug Delivery Systems (Amsterdam, Netherlands, 22-23 August 2019); Науково-практична конференція «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку» (Харків, 19-20 вересня 2019); I International Scientific and Practical Conference «Topical issues in pharmacy and medical sciences» (Tokyo, Japan, 22 October 2019); Науково-практична Internet-конференція «Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації» (Харків, 22-23 жовтня 2019); Науково-практична інтернет-конференція «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 21 листопада 2019).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 18 наукових робіт, у т.ч. 7 статей у наукових спеціалізованих виданнях (з них 6 статей у фахових журналах, рекомендованих МОН України, та 1 – у профільному зарубіжному журналах, що входить до міжнародних наукометричних баз), 9 тез доповідей, 1 інформаційний лист, 1 методичні рекомендації.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація містить анотації українською та англійською мовами, вступ, огляд літератури, опис матеріалів та методів дослідження, 3 розділи власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, висновки та перелік використаних джерел літератури (196 посилань, з них 41 – кирилицею, 155 – латиницею), 3 додатки. Обсяг основного тексту дисертації складає 167 сторінок друкованого тексту. Дисертація ілюстрована 33 таблицями та 39 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження. У дослідженні був вивчений водний розчин ЕЙСН (сер. № 10117, 10816, 30117), що містить діючу речовину у концентраціях 5, 10 та 20 мг/мл (АТ «Фармак», Україна) та Енісаміум йодид (субстанція) (сер. № 10113) (АТ «Фармак», Україна). У якості референс-препаратів використовували: препарат «Нурофєн®» – таблетки для перорального застосування, вкриті плівковою оболонкою, що містять по 200 мг ібупрофену (сер. № 0000094243, Reckitt Benckiser Healthcare International Ltd, UK), у дозах 48 та 105 мг/кг ($ЕД_{50}$ за протизапальною та аналгетичною активністю відповідно; Я.А. Сигидин и соавт., 1988); препарат «Синупрет®» – таблетки для перорального застосування, вкриті плівковою оболонкою, що містять по 78 мг лікарської рослинної сировини BNO-101 (сер. № 0000094243, Біонорика СЕ, Німеччина), у дозі 25 мг/кг (екстрапольована згідно рекомендацій FDA з урахуванням середньої терапевтичної дози для людини; FDA, 2005).

Доклінічна частина роботи виконана на базі кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації та ЦНДЛ НФаУ, яка атестована МОЗ України щодо вимірювань в сфері державного метрологічного нагляду (посвідчення № 058/15 від 08.12.2015, чинне до 07.12.2019). У дослідженнях було використано 238 білих щура, 14 мишей та 66 кролів, що утримувались відповідно до санітарно-гігієнічних норм (Guide for the care and use of laboratory animals, 2011) із дотриманням чинних національних та міжнародних вимог щодо дотримання принципів біоетики при роботі з лабораторними тваринами, що засвідчено висновком Комісії з питань біоетики НФаУ (протокол № 3 від 15.03.2017 та протокол № 2 від 04.11.2019). Загальний дизайн дослідження наведено на рис. 1.

Клінічна частина роботи була проведена на базі Клініко-діагностичного центру (КДЦ) НФаУ (МОЗ України, акредитаційний сертифікат № 013177, серія МЗ від 28.10.2016 № 1154, чинний до 28.10.2019) та відповідає вимогам ДСТУ ISO 9001:2009 «Системи управління якості. Вимоги» (ISO 9001:2008, IDT; сертифікат № UA 2.0003.08997-15 дійсний до 23.04.2020), КД «Одноцентрове, рандомізоване, подвійне сліпе, плацебо-контрольоване клінічне дослідження з ескалацією дози по вивченню переносимості лікарського препарату «Енісаміум йодид, спрей назальний 10 мг / мл по 10 мл у флаконі» виробництва АТ «Фармак», Україна за участю здорових добровольців (I фаза)»)» (наказ МОЗ України № 248 від 09.03.2017, додаток 7). У КД прийняли участь 27 здорових добровольців обох статей віком від 18 до 50 років. КД проведене відповідно до чинного законодавства України (Наказ МОЗ України № 690 від 23.09.2009, зі змінами), та міжнародних етичних принципів, що засвідчено

висновком Комісії з питань етики КДЦ НФаУ (протокол № 036/3 від 03.02.2017), а також відповідно до затвердженого протоколу КД.

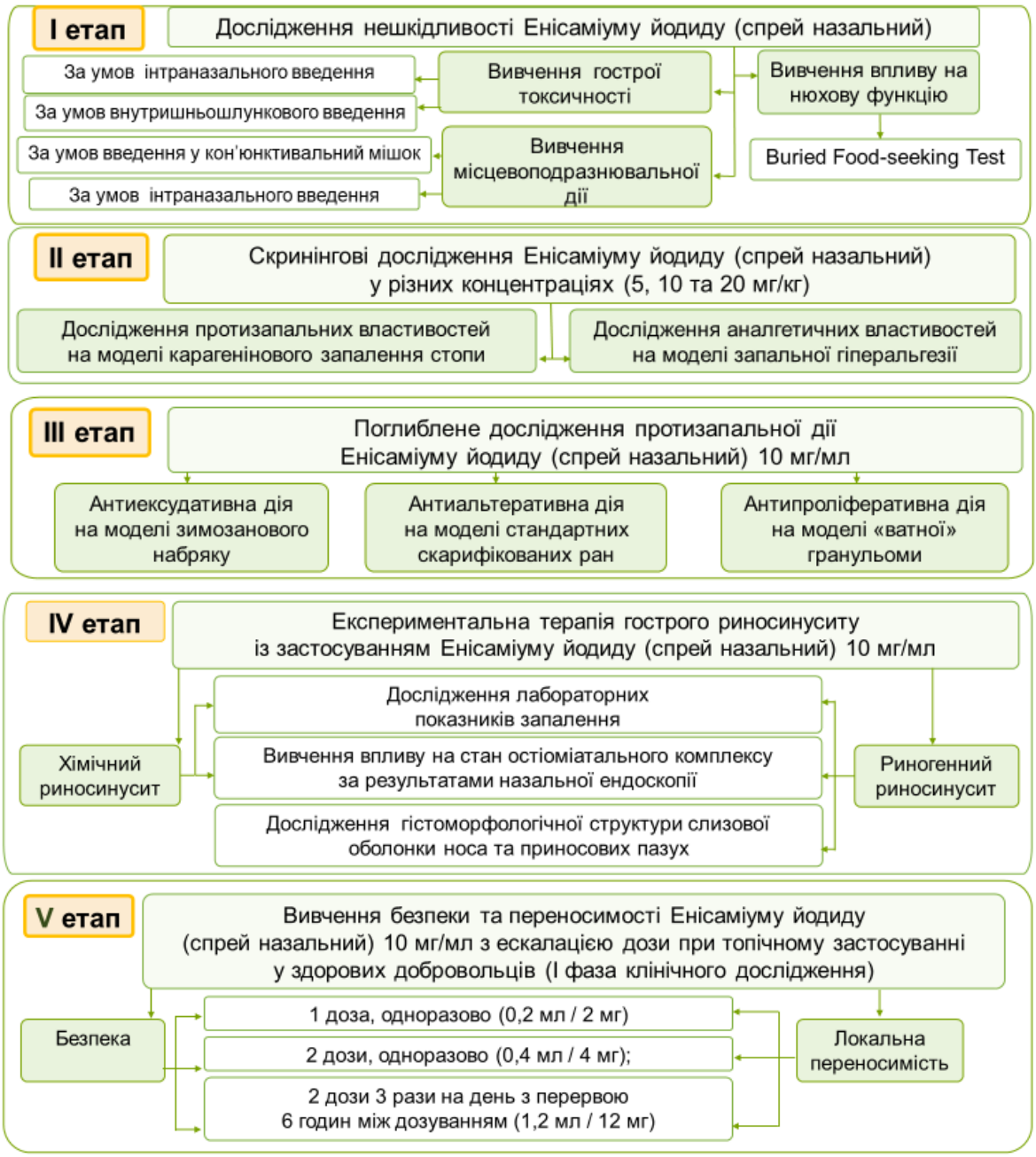

Рис. 1 Загальний дизайн дослідження

Для вивчення стану остіомеатального комплексу (ОМК) була проведена назальна ендоскопія кролів (A.M. Wuister et al., 2014; P. Colley et al., 2014) з використанням риноскопів Karl Storz (Німеччина) різного діаметру, довжини робочої частини та кута спостереження (4 мм-150 мм-30° та 2,7 мм-110 мм-0°, відповідно) з цифровою фіксацією та з подальшим аналізом результатів на наявність патологічних змін, що є типовими для ГРС.

Гістоморфологічні дослідження мікропрепаратів тканин носової порожнини проводили стандартними методами світлової мікроскопії з використанням забарвлень гематоксиліном-еозином (Г-Е) та Шифф-йодною кислотою (ШИК) (A.L. Mescher, 2018; R. Nayak, 2018). Мікроскопічне дослідження та фотофіксацію мікропрепаратів

проводили за допомогою модульного світлопольного мікроскопа Optika B-1000BF («Optika», Італія) із цифровою камерою Optikam HDMI Pro («Optika», Італія) з кратністю збільшення у межах х100–х400. Отримані результати піддавали морфометричному аналізу за допомогою програм Optika IsView та та Optika Vision Lite v. 3.9.0.602 («Optika», Італія) (M. Bosch, 2019) та напівкількісній бальній оцінці.

Характеристика використаних моделей. Попередні доклінічні дослідження субстанції Енісаміуму йодиду дозволили визначити LD_{50} при внутрішньошлунковому (в/ш) введенні, значення якої є 2548 мг/кг (Б.М. Клєбанов та співавт., 1994; Т.А. Бухтиарова, 1998), тому у дослідженнях з визначення гострої токсичності водного розчину Енісаміуму йодиду у різних концентраціях ця доза була прийнята як лімітуюча. Дослідження було проведено на 18 щурах за методом Т.В. Пастушенко (Т.В. Пастушенко и соавт., 1995). Доклінічне дослідження місцевоподразнювальної дії ЕЙСН було проведено на 18 кролях (інстиляція ЕЙСН 10 мг/мл 0,01 мл в кон'юнктивальний мішок ока та 0,1 мл в лівий носовий хід) згідно з методичними рекомендаціями «Доклінічне вивчення місцевоподразнювальної дії лікарських засобів» (ДФЦ МОЗ України, 2007), назальну ендоскопію використовували як метод контролю стану слизової оболонки носової порожнини кролів (A.M. Wuister et al., 2014; P. Colley et al., 2014; T.S. Zhulai et al., 2019); вивчення впливу на нюхову функцію проведено на 14 мишах (інстиляція ЕЙСН 10 мг/мл у дозі 0,1 мл в носовий хід) з використанням Buried Food Test (Yang M., Crawley J.N., 2009).

Первинний скринінг з вивчення антиексудативної дії ЕЙСН у трьох концентраціях (5 мг/мл, 10 мг/мл, 20 мг/мл) виконано на моделі карагенінового запалення стопи у щурів (50 тварин), яку відтворювали за допомогою субплантарного введення 0,1 мл 1% розчину γ-карагеніну («Sigma», США) (А.В. Стефанов, 2002; А.Н. Миронов, 2012). ЕЙСН досліджували у зазначених концентраціях з нанесенням через 1 годину після відтворення патології. Об'єм набряку стопи вимірювали за 30 хв перед та через 3 год після введення флогогена за допомогою цифрового плетизмометра (IITC Life Science, США). Скринінг з вивчення аналгетичної активності (АА) ЕЙСН проводили на білих нелінійних щурах (50 тварин) за умов розвитку експериментальної карагенін-індукованої больової реакції н (А.В. Стефанов, 2002). Поріг больової чутливості (ПБЧ) та зміни ПБЧ після нанесення препарату через 3 год в концентраціях 5 мг/мл, 10 мг/мл, 20 мг/мл визначали за допомогою аналгезиметра Ugo Basile 37215 (N.B. Nkeh-Chungag et al., 2010; S. Gunda et al., 2012). Дослідження проводили у порівнянні з ібупрофеном у дозах 48 мг/кг при вивченні антиексудативної дії та 105 мг/кг при визначенні АА. За результатами скринінгових досліджень антиексудативної та аналгетичної активності на підставі порівняльного аналізу результатів трьох вивчених концентрацій ЕЙСН була визначена найдоцільніша концентрація Енісаміуму йодиду у препараті для подальших досліджень.

Поглиблене дослідження протизапальних властивостей ЕЙСН при нашкірному нанесенні за умов розвитку експериментального зимозанового запалення за допомогою субплантарного введення у праву задню лапу 0,1 мл 2% суспензії зимозану («Fluka», Швейцарія) (А.В. Стефанов, 2002) було проведене на 30 білих нелінійних щурах. ЕЙСН наносили через 1 год після відтворення патології. Об'єм набряку стопи вимірювали за 30 хв перед та через 0,5, 1 та 2 год після введення флогогена за

допомогою цифрового плетизмометра (IITC Life Science, США). Вивчення аналгетичних властивостей ЕЙСН при нашкірному нанесенні за умов розвитку експериментальної зимозан-індукованої больової реакції (А.В. Стефанов, 2002) було проведено на 30 білих нелінійних щурах. ЕЙСН наносили за 1 год до відтворення патології. ПБЧ та зміни ПБЧ після нанесення препарату через 0,5, 1 та 2 год визначали за допомогою аналгезиметра Ugo Basile 37215 (N.B. Nkeh-Chungag et al., 2010; S. Gunda et al., 2012). У якості референс-препарату був використаний ібупрофен у дозі 48 або 105 мг/кг ($ЕД_{50}$ за протизапальною та аналгетичною активністю) (Я.А. Сигидин и соавт., 1988). Дослідження проводили у порівнянні з ібупрофеном у вищезазначених дозах.

Дослідження антиальтеративної активності ЕЙСН 10 мг/мл було проведено на моделі стандартних скарифікованих ран на 30 білих щурах. Ефективність препаратів оцінювали за показниками швидкості загоєння та активності зменшення площі ран, яку розраховували загальноприйнятим методом (А.В. Стефанов, 2002). Антипроліферативна активність ЕЙСН 10 мг/мл була вивчена на моделі «ватяної» гранульоми (А.В. Стефанов, 2002) на 30 білих щурах. У якості референс-препарату був використаний ібупрофен у дозі 48 мг/кг ($ЕД_{50}$ за протизапальною активністю) (Я.А. Сигидин и соавт., 1988). У якості референс-препарату був використаний ібупрофен у дозі 48 мг/кг.

Дослідження впливу ЕЙСН 10 мг/мл на перебіг експериментального РС проведено на 48 кролях у дозі 0,1 мл при і/н введенні протягом 10 діб. У якості препарату порівняння використовували BNO-101 у дозі 25 мг/кг при в/ш введенні протягом 10 діб. Доза обох препаратів була екстрапольована згідно рекомендацій FDA з урахуванням середньої терапевтичної дози для людини (FDA, 2005). Назальну ендоскопію використовували на всіх етапах дослідження (A.M. Wuister et al., 2014; P. Colley et al., 2014; T.S. Zhulai et al., 2019). Експериментальний хімічний РС відтворювали шляхом введення у носові ходи флогогена – 40% розчин натрію гідроксиду, яким просочували тампони та вводили у загальний носовий хід (ніздрі), тривалістю 1-2 секунди (Ю.О. Київська, 2017). Експериментальний риногенний РС відтворювали шляхом тампонади правої половини носової порожнини (H.O. Costa et al., 2007; A.C. Pereza et al., 2014). Для забезпечення об'єктивності результатів назальної ендоскопії на всіх етапах використовували напівкількісну бальну оцінку ступеню ураження тканин носової порожнини, зокрема ОМК. Гістоморфологічне та морфометричне вивчення тканин носової порожнини кролів проводили на 25-у добу риногенного РС стандартними методами світлової мікроскопії (A.L. Mescher, 2018; R. Nayak, 2018).

Клінічна частина роботи була проведена у рамках КД «Одноцентрове, рандомізоване, подвійне сліпе, плацебо-контрольоване клінічне дослідження з ескалацією дози по вивченню переносимості лікарського препарату «Енісаміум йодид, спрей назальний 10 мг / мл по 10 мл у флаконі» виробництва АТ «Фармак», Україна за участю здорових добровольців (I фаза)» (наказ МОЗ України № 248 від 09.03.2017, додаток 7) на базі КДЦ НФаУ за участю 27 здорових добровольців з розподілом на три групи з різними режимами дозуванням досліджуваних засобів (одноразово 0,2 мл/2 мг, одноразово 0,4 мл/4 мг і тричі на день з 6-годинною перервою 1,2 мл/12 мг) . Оцінка локальної переносимості та безпеки ґрунтувалась на результатах риноскопії, оцінці суб'єктивних відчуттів, а також реєстрації

побічних реакцій (ПР) / побічних явищ, даних фізикального огляду, результатах лабораторно-інструментальних обстежень.

Статистичну обробку отриманих результатів експерементальних досліджень виконано із використанням комп'ютерного програмного забезпечення IBM SPSS Statistics v. 22 (IBM Corp., США) та MS Excel 2016 (Microsoft Corp., США) із розрахунком середнього арифметичного зі стандартною помилкою (M±m) або медіани з ніжнім та верхнім квартилями (Me LQ÷UQ). Для визначення міжгрупових відмінностей використовували однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA) й непараметричні методи аналізу – H-критерій Крускала-Волліса та U-критерій Манна-Вітні для апостеріорних парних порівнянь (T.J. Quirk at al., 2016; M.A. Islam at al., 2018). Статистичний аналіз даних КД (з розкриттям схеми рандомізації) був проведений із використанням методів описової статистики, критерію Манна-Вїтні та непараметричного методу Фрідмена (T.J. Quirk at al., 2016; M.A. Islam at al., 2018), а також непараметричного тесту Вілкоксона, застосовуючи поправку Бонферроні (В.Є. Доброва та співавт., 2009; В.Є. Доброва та співавт., 2012). Відмінності вважали статистично значущими при рівні вірогідності $p<0,05$ (M.A. Islam, A. Al-Shiha, 2018; A. Indrayan, K.R. Malhotra, 2018).

Результати та їх обговорення. У результаті проведених експериментів з вивчення гострої токсичності встановлено, що розрахункове значення LD_{50} тест-зразків Енісаміуму йодиду при і/н та в/ш введенні склало 2580 мг/кг (930÷3220). Отримані дані узгоджуються з даними попередніх досліджень (Б.М. Клєбанов та співавт., 1994; Т.А. Бухтиарова, 1998), тобто Енісаміум йодид належить до IV класу токсичності (малотоксичні речовини) (А.В. Стефанов, 2002). За результатами вивчення місцевоподразнювальної дії ЕЙСН 10 мг/мл встановлено, що після одноразової інстиляції ЕЙСН 10 мг/мл у кон'юнктивальний мішок ока кролів не спостерігалося змін у поведінці тварин, які могли б слугувати ознаками болю або дискомфорту. Не визначались відмінності в зовнішньому вигляді між лівим та правим (інстиляція фізіологічного розчину) оком (рис. 2).

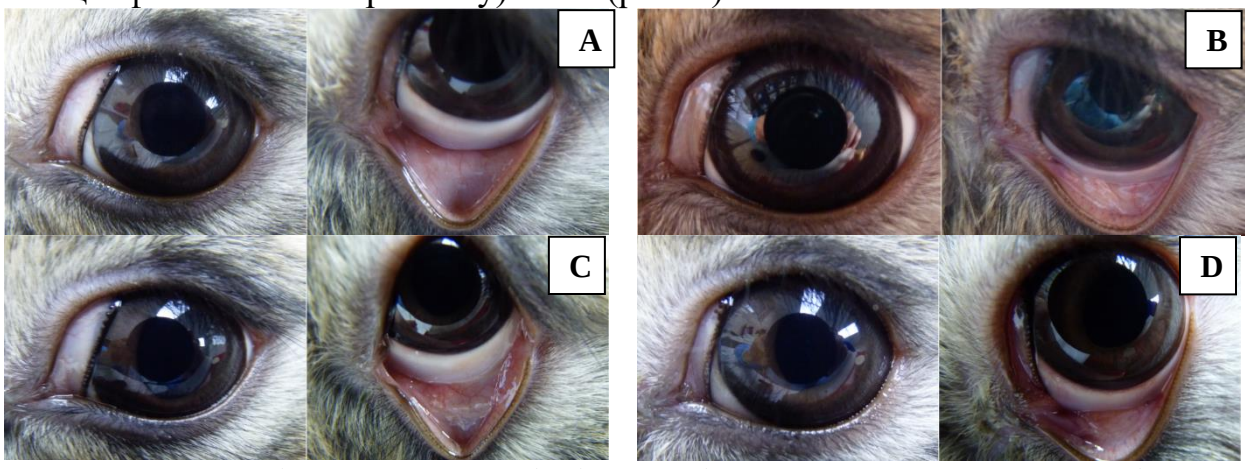

Рис. 2 Стан лівого ока в різні часові точки спостереження, інстиляція ЕЙСН 10 мг/мл: A – через 1 годину; B – через 24 години; C – через 48 годин; D – через 72 години

Під час вивчення місцевоподразнювальної дії на слизову оболонку носової порожнини кролів встановлено, що застосування ЕЙСН 10 мг/мл не спричинювало

істотних змін загального стану та поведінки тварин. За результатами назальної ендоскопії в усі обрані часові точки спостереження не спостерігалось патологічних змін: слизова оболонка була рожевого кольору з невеликою кількістю прозорих слизових виділень; судинний малюнок незмінений; ознаки набряку чи гіперемії відсутні (рис. 3).

Загальна кількість балів (0 балів) в усіх групах в усі часові точки спостереження відповідає стану здорового ока та фізіологічному стану слизової оболонки порожнини носа. Таким чином можно зробити висновок, що ЕЙСН 10 мг/мл не чинить місцевоподразнювальної дії на слизову оболонку кон'юнктиви ока та носової порожнини кролів, що засвідчує його безпеку при місцевому застосуванні.

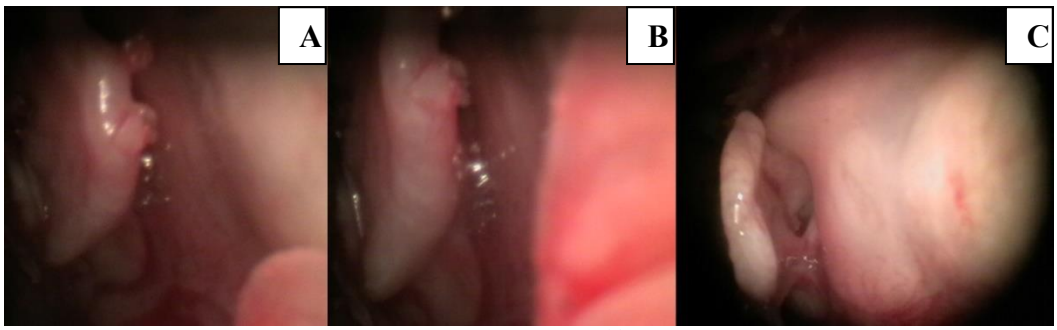

Рис. 3 Назальна ендоскопія (інстиляція ЕЙСН 10 мг/мл): А – до інстиляції; В – через 1 годину після інстиляції; С – через 24 години після інстиляції

У дослідах на мишах за результатами Buried Food Test підтверджено відсутність негативного впливу ЕЙСН 10 мг/мл на нюхову функцію мишей. Середній час пошуку їжі у групі тварин на фоні введення ЕЙСН у порівнянні з тваринами, яким була проведена інстиляція фізіологічного розчину не мав достовірних відмінностей – 10,9/10,9 с та 11,6/11,4 с, відповідно (за 18 годин до та 18 годин після інстиляції).

У скринінгових дослідженнях протизапальних та аналгетичних властивостей ЕЙСН у концентраціях 5 мг/мл, 10 мг/мл, 20 мг/мл на моделі карагенінового запалення стопи у щурів та карагенін-індукованої больової реакції, показано, що у всіх вивчених концентраціях він чинив статистично значиму протизапальну дію різного ступеня виразності. Найбільш виражений вірогідний рівень протизапальної та аналгетичної дії спостерігався при застосуванні ЕЙСН у концентрації 10 мг/мл ($p<0,05$): 5 мг/мл (14,5% та 20,6%, відповідно) < 10 мг/мл (35,3% та 43,4%, відповідно) > 20 мг/мл (22,5% та 33,5%, відповідно). Результати дослідження показали наявність нелінійної залежності «активність – концентрація», що не дає можливості провести пробіт-аналіз. Вибір найбільш оптимальної концентрації ЕЙСН було проведено за результатами порівняльного аналізу протизапальної та аналгетичної активності тест-зразків. Найвищий рівень активності ЕЙСН проявив при застосуванні у концентрації 10 мг/мл, яка й була використана у подальших дослідженнях.

Поглиблене вивчення протизапальної активності ЕЙСН в найбільш ефективній концентрації 10 мг/мл було проведено на моделі зимозанового запалення. Згідно з наведеними даними (рис. 4, А), ЕЙСН 10 мг/мл чинив помірну антиексудативну дію: станом на 30 хвилину спостережень – 18,6%, на першу годину – 23,6% та на другу годину – 19,9%. За вираженістю ПЗА на 30-у хвилину спостережень він вірогідно перевищував активність препарату порівняння ібупрофен ($p<0,05$), станом на 1 годину

тенденційно перевершував, а потім знаходився на його рівні без вірогідних відмінностей (12,6%, 21,1% та 24,3%, відповідно). За результатами вивчення аналгетичної активності на моделі зимозан-індукованої гіпералгезії ЕЙСН 10 мг/мл чинив максимальну аналгетичну активність на 30 хвилину (23,7%) і 1 годину спостережень (30,9%) та вірогідно переважав активність ібупрофену ($p<0,05$) на 2-у годину – 28,3% (рис. 4, В). Здатність ЕЙСН 10 мг/мл до високої швидкості розвитку антиексудативної та аналгетичної дії може бути обумовлена його певними антилейкотрієновими властивостями (A.A. Hemmati at al., 2013; D.K. Ledford, R.F. Lockey, 2016).

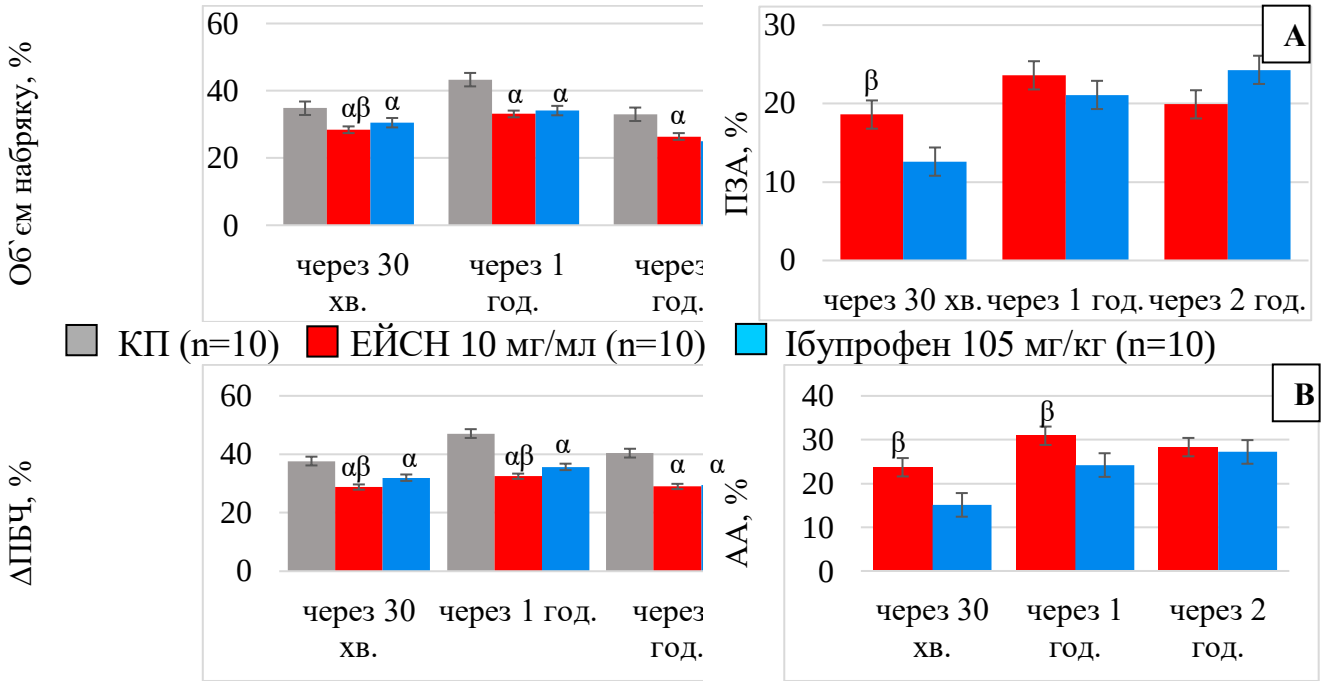

Рис. 4 Поглиблене дослідження протизапальної (А) та аналгетичної (В) активності ЕЙСН 10 мг/мл (n=30, M±m)

Примітка. α – інтактний контроль (ІК) ($p<0,05$); β –тварини, що отримували ібупрофен ($p<0,05$); n – кількість тварин у кожній групі.

Результати дослідження антиальтеративної та антипроліферативної активності показали, що ЕЙСН 10 мг/мл має достовірно високу антиальтеративну активність у порівнянні з ібупрофеном (27,56% та 18,6%, відповідно у середньому за весь термін спостереження) ($p<0,05$) та помірну антипроліферативну активність (14,24% та 15,05%, відповідно). За ступенем антиальтеративної активності ЕЙСН вірогідно перевершував ібупрофен з 12 доби спостереження у 2,8 разу ($p<0,05$), за вираженістю антипроліферативної активності ЕЙСН не показав вірогідних відмінностей.

При поглибленому фармакологічному вивченні ефективності ЕЙСН 10 мг/мл на тлі розвитку експериментального хімічного та риногенного РС встановлено, що за динамікою гематологічних показників станом на 10 або 25 добу у групі кролів, які отримували ЕЙСН, вірогідно знижувався вміст лейкоцитів (до інтактного рівня – 10,4 х 10^9/л та 10,5 х 10^9/л, відповідно), паличкоядерних нейтрофілів (до 1,6% та 1,8%, відповідно) та сегментоядерних нейтрофілів (25,1% та 24,6, відповідно). Вміст лімфоцитів навпаки збільшувався (до 69,2% та 68,0%, відповідно), що загалом

свідчить про нормалізацію лейкоцитарної формули тварин. При риногенному РС показник ШОЕ вірогідно зменшувався в 1,9 разу. Це свідчить, що ЕЙСН 10 мг/мл має позитивний вплив на гематологічні ознаки запалення та за рівнем активності не поступається препарату порівняння BNO-101 (без тенденційних відмінностей).

За результатами назальної ендоскопії носової порожнини кролів з хімічним РС (1 та 10 доба) та напівкількісної бальної оцінки встановлено наявність регресу симптомів РС (рис. 5 A-C). У групі КП на 1 добу були наявні ознаки РС (множинні крововиливи у слизову оболонку середньої носової раковини) (рис. 5A) та середня кількість балів склала 4,5 (РС середньо-важкого ступеню), що вірогідно більше, ніж у групі ІК; на 10-у добу – 3,0 (РС легкого ступеню) з наявністю вірогідного регресу РС (рис. 5D). У групі тварин, які отримували ЕЙСН 10 мг/мл станом на 10 добу були наявні ендоскопічні ознаки регресу РС (поодинокі крововиливи у слизову оболонку перегородки носа, середня носова раковина блідо-рожевого кольору) (рис. 5B) та середня кількість балів на 1-у добу склала 4,5 (РС середньо-важкого ступеню), що вірогідно більше, ніж у групі ІК; на 10-у добу – вірогідно знизилась до 0,5 (фізіологічна норма) з тенденційним перевищенням активності BNO-101 (рис. 5D). У групі тварин, які отримували BNO-101 на 10 добу також спостерігалася ендоскопічна регресія РС (середня носова раковина блідо-рожевого кольору, набряк відсутній) (рис. 5C), середня кількість балів на 1-у добу склала 4,5 (РС середньо-важкого ступеню), що вірогідно більше, ніж у групі ІК; на 10-у добу – вірогідно знизилась до 1,0 (фізіологічна норма) (рис. 5D) ($p<0,05$ в усіх випадках).

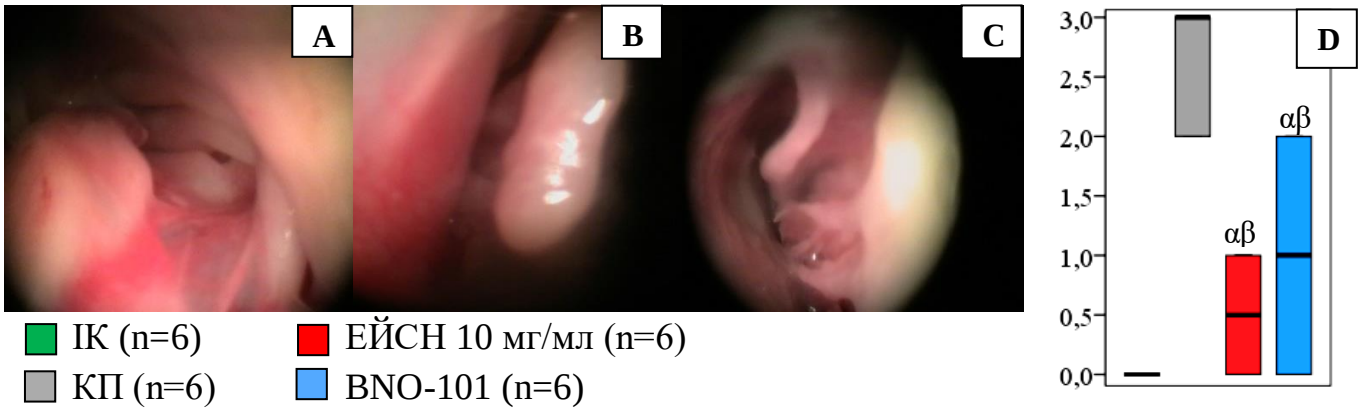

Рис. 5 Назальна ендоскопія носової порожнини кролів з хімічним РС: Напівкількісна бальна оцінка стану остіомеатального комплексу кролів (D) (n=24, Me, LQ÷UQ)

Примітка. КП (A); група, яка отримувала ЕЙСН 10 мг/мл (B): група, яка отримувала BNO-101 (C); α – ІК($p<0,05$); β – КП ($p<0,05$); γ –BNO-101 ($p<0,05$); n – кількість тварин у кожній групі.

Результати назальної ендоскопії носової порожнини кролів з риногенним РС (15 та 25 доба) також підтвердили виражену протизапальну активність ЕЙСН 10 мг/мл (рис. 6 A-D). У групі КП станом на 15 добу спостерігались наступні ендоскопічні ознаки РС: дифузна гіперемія та значний набряк середньої носової раковини, значний набряк співустя верхньощелепної пазухи, співустя не функціонує, наявність рясних густих слизових виділень в середньому носовому ході (рис. 6 B-1). Станом на 25 добу зафіксовані мінімальні ознаки регресу РС (рис. 6 B-2). У групі

тварин, які отримували ЕЙСН 10 мг/мл на 15 добу були присутні такі ж ознаки РС, як і на 15 добу у КП (рис. 6 С-3). На 25 добу відзначено значний регрес РС: середня носова раковина блідо-рожева, наявність невеликої кількості слизових виділень в середньому носовому ході, набряк співустя верхньощелепної пазухи відсутній, співустя функціонує (рис. 6 С-4). У групі тварин, які отримували BNO-101 на 15 добу були такі ж ознаки РС, як і на 15 добу у КП (рис. 6 D-5). На 25 добу також відмічені ознаки регресу РС: невелика кількість водянистих виділень у середньому носовому ході, незначний набряк середньої носової раковини (рис. 6 С-6), але за деякими ознаками менш виражені, аніж у групі ЕЙСН. У КП середня кількість балів на 15 добу склала 4,5 (важкий РС), що вірогідно більше, ніж у ІК; на 25 добу – 6,0 (важкий РС с тенденційним регресом за ендоскопічними ознаками).

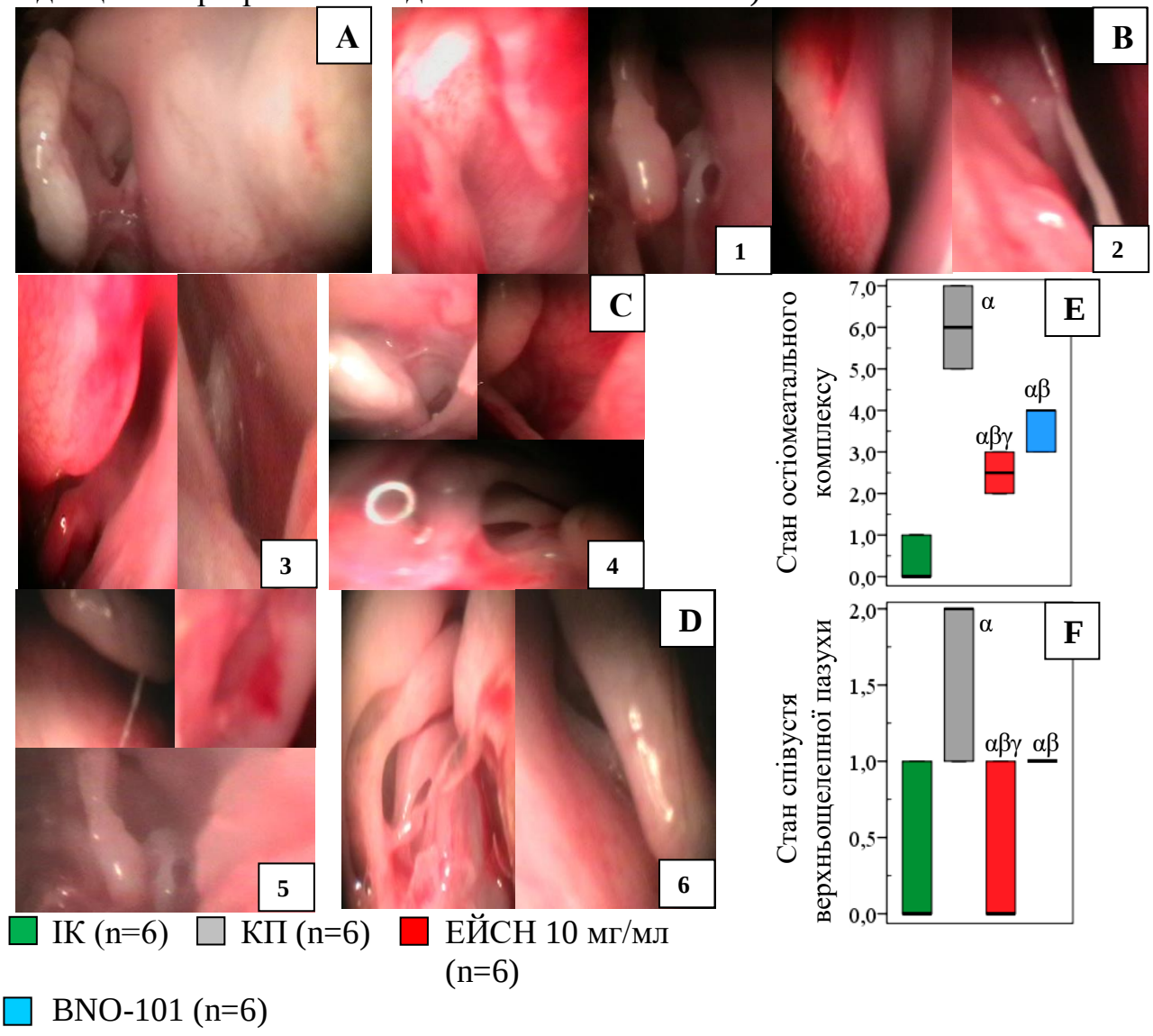

Рис. 6 Назальна ендоскопія носової порожнини кролів з риногенним РС. Напівкількісна бальна оцінка стану остіомеатального комплексу (Е) та співустя верхньощелепної пазухи кролів (F) (n=24, Me, LQ÷UQ)

Примітка. ІК (А); КП (В-1, 2); група, яка отримувала ЕЙСН 10 мг/мл (С-3, 4); група, яка отримувала BNO-101(D-5, 6); α – ІК($p<0,05$); β – КП ($p<0,05$); γ –BNO-101 ($p<0,05$); n – кількість тварин у кожній групі.

У групі тварин, які отримували ЕЙСН 10 мг/мл на 15 добу – 7,0 (важкий РС), що вірогідно більше, ніж у ІК; на 25 добу – вірогідно знизилась до 2,5 (легкий РС) з вірогідним перевищенням активності відносно BNO-101. У групі тварин, які отримували BNO-101 – 7,0 (важкий РС), що вірогідно більше, ніж у групі ІК; на 25 добу – вірогідно знизилась до 4,0 (РС середньої важкості) (рис. 6 E) ($p<0,05$ в усіх випадках). За результатами напівкількісної оцінки доведено, що ЕЙСН 10 мг/мл також вірогідно перевищив активність BNO-101 на 25 добу дослідження за таким показником, як «стан співустя верхньощелепної пазухи» (0 – фізіологічна норма та 1 – легкий РС) (рис. 6 F) ($p<0,05$).

Результати проведених гістоморфологічних досліджень (рис. 7 A-D) підтверджують зниження запально-деструктивних ознак у епітелії слизових оболонок носової порожнини та навколоносових пазух носа тварин. У 33% мікропрепаратів взагалі не було виявлено патологічного запального інфільтрату, а у 50% – набряку слизової оболонки. У решти спостерігались осередкові клітинні інфільтрати, що не порушують структуру епітеліальної тканини, та субепітеліальне набрякове розволокнення власної пластинки. За результатами морфометричної оцінки у групі тварин, яким вводили ЕЙСН, зафіксовано вірогідне зниження числа келихоподібних клітин і кількості продукованого ними слизу відносно КП (6,58 та 18,13 екз./мм^2, відповідно) та зменшення висоти епітелію (21,54 та 30,45 мкм, відповідно ($p<0,05$) (рис. 6-E). За результатами напівкількісної бальної оцінки середня кількість балів на 25 добу склала 1,5, що вірогідно менше ($p<0,05$), ніж у групі КП та за цим показником ЕЙСН тенденційно перевершив активність BNO-101 (2,0) (рис. 7-F).

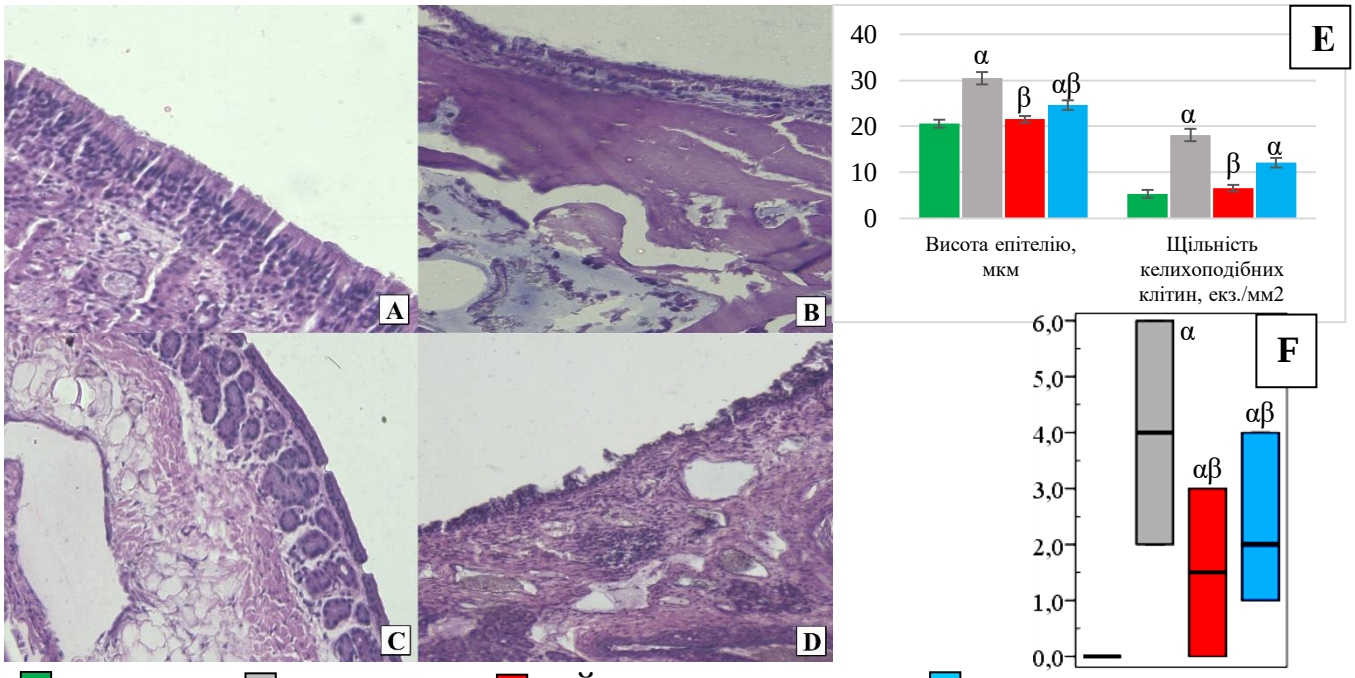

Рис. 7 Гістоморфологічна структура слизової оболонки правої половини носової порожнини кролів з риногенним РС, Г-Е×200. Морфометрична оцінка (Е) та морфологічна напівкількісна бальна оцінка (F) (Me, LQ÷UQ, M±m)

Примітка. ІК (А); КП (В); група, яка отримувала ЕЙСН 10 мг/мл (С); група, яка отримувала BNO-101 (D); α – ІК($p<0,05$); β – КП ($p<0,05$); γ –BNO-101 ($p<0,05$); n – кількість тварин у кожній групі.

За результатами вивчення безпеки та переносимості ЕЙСН 10 мг/мл з ескалацією дози (I фази КД) встановлено, що ЕЙСН не поступається плацебо за показниками «локальна переносимість» та «безпека», а всі встановлені відмінності є статистично незначущими, що свідчить про добру локальну переносимість та безпеку при різних режимах дозування, що доповнюють сприятливий фармакологічний профіль ЕЙСН 10 мг/мл.

Отже, результати дисертаційної роботи підтверджують, що водний розчин Енісаміуму йодиду 10 мг/мл у формі назального спрею є малотоксичною речовиною, не має місцевоподразнювальної дії та не впливає на нюхову функцію, має полівалентну фармакодінамику зі швидким розвитком ефекту при топічному застосуванні; достатній терапевтичний вплив на перебіг експериментального риносинуситу, що підтверджено даними назальної ендоскопії та гістоморфологічними дослідженнями; добру локальну переносимість та безпеку при різних режимах дозування, що підтверджено результатами клінічного дослідження (I фаза). Все вищевикладене є підставою для подальших доклінічних та клінічних досліджень Енісаміуму йодиду з метою розширення асортименту вітчизняних лікарських засобів для прецизійної терапії гострого риносинуситу та її оптимізації.

ВИСНОВКИ

Гострий риносинусит є широко розповсюдженим захворюванням та однією з найбільш частих причин звернення пацієнтів за медичною допомогою. Але на фармацевтичному ринку України недостатньо представлені препарати для патогенетичного лікування цієї патології в топічній лікарський формі, які б забезпечували швидкий розвиток ефекту та мали б високий профіль безпеки. У дисертаційній роботі наведене теоретичне обґрунтування та експериментальне вирішення наукового завдання сучасної медицини, яке полягає у пошуку нових препаратів з полівалентною фармакодинамікою для місцевої патогенетичної терапії гострого риносинуситу відповідно до сучасних принципів прецизійної медицини. За результатами досліджень експериментально доведено наявність протизапальних та аналгетичних властивостей Енісаміуму йодиду 10 мг/мл у формі назального спрею, добру безпеку і переносимість та, виходячи з цього, доцільність його використання в патогенетичній терапії гострого риносинуситу.

1. За результатами дослідження гострої токсичності водний розчин Енісаміуму йодиду відноситься до IV класу токсичності (малотоксичні речовини) при інтраназальному та внутрішньошлунковому введенні. Енісаміум йодид (спрей назальний) 10 мг/мл при одноразовому введенні не чинить місцевоподразнювальної дії на кон'юнктиву очей та слизову оболонку носової порожнини та не призводить до порушення нюхової функції.
2. За результатами скринінгових досліджень найбільш виражений вірогідний рівень протизапальної та аналгетичної дії спостерігався при застосуванні Енісаміуму йодиду (спрей назальний) у концентрації 10 мг/мл ($p<0,05$): 5 мг/мл (14,5% та 20,6%, відповідно) < 10 мг/мл (35,3% та 43,4%, відповідно) > 20 мг/мл (22,5% та 33,5%, відповідно). Енісаміум йодид (спрей назальний) у концентрації 10 мг/мл був використаний у подальших дослідженнях.
3. Доведено, що ЕЙСН 10 мг/мл чинить вірогідну антиексудативну та аналгетичну

дію, які є найбільш вираженими на 30 хвилину спостереження (18,6% та 23,7%, відповідно) ($p<0,05$), механізм розвитку яких полягає у переважному впливі на лейкотриеновий шлях реалізації запалення ($p<0,05$). Встановлено, що Енісаміум йодид (спрей назальний) 10 мг/мл має достовірно високу антиальтеративну активність (27,56% та 18,6%, відповідно у середньому за весь термін спостереження), за ступенем якої вірогідно перевершував препарат порівняння з 12 доби спостереження у 2,8 разу ($p<0,05$) та помірну антипроліферативну активність без вірогідних відмінностей (14,24% та 15,05%, відповідно).

4. Доведено, що при розвитку хімічного та риногенного риносинуситу у кролів Енісаміум йодид (спрей назальний) 10 мг/мл при інтраназальному застосуванні протягом 10 діб чинить вірогідний позитивний вплив на гематологічні маркери запалення: зниження кількості лейкоцитів до інтактного рівня, зниження паличко-ядерних нейтрофілів, підвищення лімфоцитів, вірогідне зменшення ШОЕ (на моделі риногенного риносинуситу) в 1,9 разу з досягненням інтактного рівня. Енісаміум йодид за рівнем активності не поступається препарату порівняння BNO-101, але й за рівнем впливу на ШОЕ достовірно перевершив його активність ($p<0,05$).
5. За результатами назальної ендоскопії встановлено, що Енісаміум йодид (спрей назальний) 10 мг/мл при інтраназальному застосуванні протягом 10-ти діб у кролів з хімічним риносинуситом призводить до регресу симптомів – за результатами напівкількісної бальної оцінки ступеню ураження середня кількість балів на 1 та 10 добу склала 4,5 та 0,5 балів, відповідно з тенденційним перевищенням активності BNO-101 (4,5 та 1,0 бал, відповідно). Результати назальної ендоскопії носової порожнини кролів з риногенним риносинуситом також підтвердили виражену протизапальну активність Енісаміуму йодиду. У групі тварин, які отримували Енісаміум йодид 10 мг/мл на 25 добу відзначено значний регрес риносинуситу (від 7,0 до 2,5 балів, відповідно) з вірогідним перевищенням активності відносно BNO-101 (7,0 до 4,0 балів, відповідно). Доведено, що Енісаміум йодид (спрей назальний) 10 мг/мл також вірогідно перевищив активність BNO-101 на 25 добу дослідження за таким показником, як «стан співустя верхньощелепної пазухи» (0 – фізіологічна норма та 1 – легкий РС) ($p<0,05$ в усіх випадках).
6. Результати проведених гістоморфологічних досліджень з вивчення впливу Енісаміуму йодиду на перебіг риногенного РС у кролів свідчать про наявність вірогідного лікувального ефекту, що підтверджується результатами морфометричної оцінки (вірогідне зниження числа келихоподібних клітин і кількості продукованого ними слизу та зменшення висоти епітелію відносно КП – 6,58 та 18,13 екз./мм^2; 21,54 та 30,45 мкм, відповідно) та морфологічної напівкількісної оцінки (середня сума балів склала 1,5 у групі тварин, які отримували Енісаміум йодид (спрей назальний) 10 мг/мл у порівнянні з групою тварин, у яких застосовували BNO-101 – 2,0 бали) . Слід відмітити, що за цим показником Енісаміум йодид тенденційно перевершив активність BNO-101, який є відомим засобом лікування риносинуситів ($p<0,05$ в усіх випадках).
7. Результати вивчення безпеки та переносимості Енісаміуму йодиду (спрей назальний) 10 мг/мл з ескалацією дози при топічному застосуванні при проведенні

І фази клінічного дослідження у здорових добровольців при різних режимах дозування свідчить про добру локальну переносимість та безпеку використання.

8. Енісаміум йодид (спрей назальний) 10 мг/мл є перспективним засобом для подальших доклінічних та клінічних досліджень з метою розширення асортименту вітчизняних лікарських засобів для прецизійної терапії ГРС та її оптимізації.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Жулай Т.С., Шебеко С.К., Зупанець І.А. Дослідження дозозалежності антиексудативної дії нового назального спрею з протизапальними властивостями. *Клінічна фармація.* 2017. № 21(4). С. 11–16. (Особистий внесок: участь у плануванні та проведенні досліджень, аналізі даних; написання та підготовка статті до друку).
2. Zupanets, I.A., Zhulai, T.S., Sakharova, T.S., Andrieieva, O.O. The significance of selecting phytopreparations for individualized therapy of acute rhinosinusitis. *Klìnìčna Farmacìâ.* (2017). 21(4). С. 52-58. (Особистий внесок: аналіз літератури, аналіз та інтерпретація даних; підготовка статті).
3. Zhulai T.S. The preclinical study of a new nasal spray with the anti-inflammatory properties: the effect on the leukotriene-induced inflammation. *Klìnìčna Farmacìâ*. 2018. № 22(4). С. 27–33. (Особистий внесок: планування та розробка протоколу, проведення дослідів, аналіз та статистична обробка даних, їх узагальнення та написання та підготовка статті до друку здійснено особисто дисертантом).
4. Nasal endoscopy prospects in experimental rhinology: some aspects of Enisamium Iodide nasal spray effectiveness in rhinosinusitis / T.S. Zhulai, I.A. Zupanets, S.K. Shebeko, K.Ye. Yampolska. *Otolaryngology.* 2019. № 6(2). С. 28–36. (Особистий внесок: аналіз літератури, участь в розробці дизайну та проведенні експерименту; участь у зборі, аналізі та інтерпретації даних; узагальнення результатів; написання та підготовка статті до друку).
5. Histomorphological Study of a New Nasal Spray with Anti-inflammatory Properties Efficacy in Rabbits with Rhinosinusitis / I. Zupanets, T. Zhulai, S. Shebeko, I. Otrishko, D. Hladkykh. *Medical Archives.* 2020. - № 74(1). С. 8-13. (Особистий внесок: участь в розробці дизайну та проведенні експерименту; участь у зборі даних; узагальнення результатів; написання та підготовка статті до друку).
6. Ефективність і переносимість Енісаміуму йодиду назального спрею: результати доклінічних та клінічних досліджень / Т.С. Жулай, І.А. Зупанець, С.К. Шебеко, Н.П. Безугла, С.М. Зімін. *Медична та клінічна хімія*. 2020. № 22(1). С. 73-82. (Особистий внесок: участь в розробці дизайну та проведенні експерименту; участь у розробці дизайну та проведенні клінічного дослідження; участь у аналізі та інтерпретації даних, узагальненні результатів; написання та підготовка статті до друку).
7. Some aspects of Enisamium Iodide nasal spray safety : pre-clinical study results / T. Zhulai, I. Zupanets, S. Shebeko, S. Zimin, K. Yampolska. *ScienceRise: Medical Science*. 2020. № 2(35). С. 35–40. (Особистий внесок: аналіз літератури; участь в розробці дизайну та проведенні експерименту; участь у аналізі та інтерпретації даних, узагальненні результатів; написання та підготовка статті до друку).

8. Зупанець І.А., Попович В.І., Жулай Т.С., Волосовець О.П., Шебеко С.К., Кривопустов С.П., Сахарова Т.С., Безугла Н.П. Фармацевтична опіка пацієнтів при лікуванні гострого риносинуситу : метод. рек. Харків : Золоті сторінки, 2020. 36 с. (Особистий внесок: огляд літератури, проведення аналізу, узагальнення результатів та підготовка методичних рекомендацій до друку).
9. Zhulai T., Shebeko S., Goy A. Perspectives for use of the new nasal spray with anti-inflammatory action in treatment of acute rhinosinusitis. Proc. of 27th Congress of the European Rhinologic Society (April 22-26, 2018). London, UK. *Rhinology*. 2018. № 56 (27). – P. 585.
10. Жулай Т.С., Зупанець І.А Перспективи застосування нового назального спрею з протизапальними властивостями при лікуванні гострих риносинуситів. 25 років діяльності Державного експертного центру: уроки минулого, погляд в майбутнє: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 25 річчю діяльності Державного експертного центру МОЗ України. (5-6 жовтня 2017 року). Київ, 2017. – С. 30-31.
11. Жулай Т.С., Шебеко С.К., Зупанець І.А. Доклінічне дослідження нового назального спрею: вплив на ексудативне запалення. Сучасні аспекти клінічної фармакології на тлі досягнень доказової медицини: зб. тез IX Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю. (16-17 листопада 2017 року). Вінниця: Нілан-ЛТД, 2017. – С. 173-174.
12. Жулай Т.С., Зупанець І.А., Безугла Н.П, Гой А.М. Нові підходи до патогенетичного лікування гострого риносинуситу: результати клінічних випробувань. Сучасні досягнення в оториноларингології : матеріали щорічної традиційної осінньої конф. Українського наукового медичного товариства лікарів-оториноларингологів з міжнар. участю (1-2 жовтня 2018 року). Львів: *Журнал вушних, носових і горлових хвороб*. 2018. № 5-с. – С. 31.
13. Sakharova T.S., Zhulai T.S., Bezugla N.P. Several safety aspects of acute rhinosinusitis treatment. International Conference on Pharmaceutical Drug Discovery and Advanced Drug Delivery Systems (August 19-20, 2019, Zurich, Switzerland).
14. Зупанець І.А., Безугла Н.П., Жулай Т.С., Оксамитна О.Г. Підходи до розробки дизайну проведення І фази клінічних випробувань нового лікарського препарату «Енісаніум йодид, спрей назальний 10 мг/ мл». Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України (19-20 верес. 2019 року). У 2 т., Т. 2.– Х. : НФаУ, 2019. - С. 301-302.
15. Zhulai T., Zupanets I., Bezugla N., Zimin S., Andreeva O. The new nasal spray in acute rhinosinusitis treatment: focus on the safety therapy by clinical trial results. Topical issues in pharmacy and medical sciences: abstracts of the 1st International scientific and practical conference (October 21-22, 2019, Tokyo, Japan). - P. 92-96.
16. Zhulai T.S. The new nasal spray with anti-inflammatory properties: the efficacy evaluation in rabbits with experimental rhinosinusitis / T.S. Zhulai, I.A. Zupanets, S.K. Shebeko, S.M. Zimin // Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації: матеріали І міжнародної наук.-практ. Internet-конф. (22-23 жовт. 2019 р.). Х.: НФаУ. 2019. - С. 258-259.

17. Zhulai T., Shebeko S., Hladkyk D., Zimin S. A new nasal spray efficacy in experimental rhinosinusitis: histomorphological study. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: матеріали II наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю (21 лист.2019 року). Харків. 2019. - С. 51.
18. Жулай Т.С., Зупанець І.А., Шебеко С.К., Колодєзна Т. Ю. Оптимізація лікування гострого риносинуситу з використанням нового назального спрею на основі Енісаміуму йодиду : інформ. лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 333-2018. Київ : Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2018. 4 с. (Особистий внесок: огляд наукової літератури, проведення аналізу, узагальнення результатів та підготовка інформаційного листа).

АНОТАЦІЯ

Жулай Т.С. Експериментальне обґрунтування застосування Енісаміуму йодиду у топічній терапії гострого риносинуситу. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 «Фармакологія». – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2020.

У дисертації обґрунтовано доцільність застосування відомого лікарського засобу з полівалентною фармакодинамікою Енісаміуму йодиду у новій лікарській формі – назальний спрей для оптимізації топічної терапії ГРС.

Доведено, що при і/н та в/ш введенні ЕЙСН 10 мг/мл є малотоксичною речовиною (IV клас токсичності), не чинить місцевоподразнювальної дії на кон'юнктиву очей та слизову оболонку носової порожнини кролів; не призводить до порушення нюхової функції. За результатами скринінгових досліджень ЕЙСН найбільш ефективна концентрація за протизапальними та аналгетичними властивостями становить 10 мг/мл. ЕЙСН 10 мг/мл проявив вірогідні протизапальні (18,6% на 30 хв) та аналгетичні (23,7% на 30 хв та 30,9% на 1 год) властивості з більш високою швидкістю розвитку ефектів у порівнянні з ібупрофеном, що може бути обумовлено наявністю певних антилейкотрієнових властивостей. Показано наявність у ЕЙСН10 мг/мл достовірно високої антиальтеративної та помірної антипроліферативної активності. Доведено, що при розвитку хімічного та риногенного РС у кролів ЕЙСН 10 мг/мл за даними гематологічних аналізів чинить вірогідний позитивний вплив на перебіг запалення, що підтверджується результатами назальної ендоскопії – ЕЙСН 10 мг/мл вірогідно сприяє регресії патології і при цьому за таким показником, як «стан співустя верхньощелепної пазухи» вірогідно перевершує активність BNO-101, що обумовлено місцевою протизапальною дією та і/н шляхом введення з більш швидким розвитком фармакодинамічного ефекту. Наявність вірогідного лікувального ефекту ЕЙСН 10 мг/мл підтверджено результатами гістоморфологічних досліджень. Результати вивчення безпеки та переносимості ЕЙСН 10 мг/мл з ескалацією дози при проведенні I фази клінічних досліджень у здорових добровольців при різних режимах дозування свідчать про добру локальну переносимість та безпеку. Комплекс отриманих результатів обґрунтовує доцільність подальших досліджень ЕЙСН 10 мг/мл з метою розширення асортименту вітчизняних лікарських засобів для патогенетичної терапії ГРС та її оптимізації.

Ключові слова: експериментальний риносинусит, Енісаміум йодид (спрей

назальний), гостра токсичність, місцевоподразнювальна дія, протизапальна активність, аналгетична активність, назальна ендоскопія, безпека, переносимість, ефективність.

АННОТАЦИЯ

Жулай Т.С. Экспериментальное обоснование применения Энисамиума йодида в топической терапии острого риносинусита. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.05 «Фармакология». – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2020.

В диссертации обоснована целесообразность применения известного лекарственного средства с поливалентной фармакодинамикой Енисамиума йодида в новой лекарственной форме – назальный спрей для оптимизации топической терапии острого риносинусита.

Доказано, что при интраназальном и внутрижелудочном введении ЭЙСН 10 мг/мл является малотоксичным веществом (IV класс токсичности), не оказывает местнораздражающего действия на конъюнктиву глаз и слизистую оболочку носовой полости кролей; не вызывает нарушения обонятельной функции. По результатам скрининговых исследований ЭЙСН наиболее эффективная концентрация по противовоспалительной и анальгетической активности составляет 10 мг/мл. ЭЙСН 10 мг/мл проявил достоверные противовоспалительную (18,6% на 30 мин) и анальгетическую (23,7% на 30 мин и 30,9% на 1ч) свойства, более высокая скорость развития которых в сравнении с ибупрофеном обусловлена наличием определенных антилейкотриеновых свойств. Показано наличие у ЭЙСН 10 мг/мл достоверно высокой антиальтеративной и умеренной антипролиферативной активности. Доказано, что при развитии химического и риногенного РС у кролей ЭЙСН 10 мг/мл по данным гематологических анализов оказывает достоверное положительное влияние на течение воспаления, что подтверждается результатами назальной эндоскопии – ЭЙСН 10 мг/мл достоверно способствует регрессии патологии и при этом по такому показателю, как «состояние соустья верхнечелюстной пазухи» достоверно превосходит активность BNO-101, что обусловлено местным противовоспалительным действием и интраназальным путем введения с более быстрым развитием фармакодинамического эффекта. Наличие вероятного лечебного эффекта ЭЙСН 10 мг/мл подтверждено результатами гистоморфологических исследований. Результаты изучения безопасности и переносимости ЭЙСН 10 мг/мл с эскалацией дозы при проведении I фазы клинических исследований у здоровых добровольцев при различных режимах дозирования свидетельствуют о хорошей локальной переносимости и безопасности. Комплекс полученных результатов обосновывает целесообразность дальнейших исследований ЭЙСН 10 мг/мл с целью расширения ассортимента отечественных лекарственных средств для патогенетической терапии острого РС и ее оптимизации.

Ключевые слова: экспериментальный риносинусит, Энисамиум йодид (спрей назальный), острая токсичность, местнораздражающее действие, противовоспалительная активность, анальгетическая активность, назальная эндоскопия, безопасность, переносимость, эффективность.

SUMMARY

Zhulai T.S. The experimental substantiation of Enisamium iodide application in topical therapy of acute rhinosinusitis. – The manuscript.

The thesis for a Candidate of Medical Science Degree (PhD) in the specialty 14.03.05 «Pharmacology». – National University of Pharmacy of Ministry of Healthcare of Ukraine, Kharkiv, 2020.

The thesis is devoted to substantiating the practicability of using a known medicine with multitype pharmacodynamics Enisamium iodide in a new dosage form – a nasal spray to optimize the topical therapy of acute rhinosinusitis to according with the appropriate medicine concept.

According to the study results, it has been proven that Enisamium Iodide (nasal spray) 10 mg/mL is a low-toxic substance when administered intranasally and intragastrically (toxicity class IV). Enisamium Iodide 10 mg/mL (nasal spray) in the single-dose instillation into the rabbit eye conjunctival sacs and rabbit nasal passage did not show local drug-induced irritant effect and lead to olfactory dysfunction.

According to the Enisamium Iodide (nasal spray) screening study results, the most effective concentration for anti-inflammatory and analgesic properties is 10 mg/mL ($p<0.05$): 5 мг/мл (14.5% та 20.6%, respectively) < 10 мг/мл (35.3% та 43.4%, respectively) > 20 мг/мл (22.5% та 33.5%, respectively). It is this concentration has been chosen for further studies. With an in-depth study of Enisamium Iodide (nasal spray) 10 mg/mL pharmacological profile, it has been proved that Enisamium Iodide was shown pronounced anti-inflammatory properties; these differences are significant compared to the reference drug ibuprofen with exceeding its activity on 30 minutes (18.6%). It has been confirmed that Enisamium iodide has pronounced analgesic properties, these differences are significant compared to the reference drug ibuprofen with exceeding its activity on 30 minutes and the first hour (30.9% and 23.7%, respectively) ($p<0.05$). Such pharmacodynamic features can be explained by an effect on the leukotriene pathway of the inflammatory process, which will be manifested by a higher rate of the clinical effect development. It has been found that Enisamium iodide (nasal spray) 10 mg/mL has a significantly high antialterative activity – on average for the entire observation period antialterative activity was 27.56% compared with ibuprofen 18.6% and moderate antiproliferative activity without tendentious differences (14.24% and 15.05%, respectively). The antialterative activity of EISN was probably superior to ibuprofen from 12 observation day in 2.8 times ($p <0.05$), the severity of antiproliferative activity of EISN did not show significant differences. It is proved that with the development of chemical and rhinogenic rhinosinusitis in rabbits Enisamium iodide (nasal spray) 10 mg/mL when administered intranasally for 10 days according to laboratory tests has a probable positive effect on the inflammation regress and is not inferior to the comparison drug BNO-101. According to the nasal endoscopy results, Enisamium iodide (nasal spray) 10 mg/mL for intranasal use in rabbits with experimental rhinosinusitis for 10 days promotes pathology regression, reduces the manifestations of inflammatory and destructive damage to mucous membranes and anatomical structures of the nasal cavity and thus exceeds the activity of BNO-101. According to semi-quantitative assessment results for 25 days (rhinogenic rhinosinusitis), the average number of points in the group of animals in which Enisamium iodide (nasal spray) 10 mg/mL was used, was 2.5, which allows attributing to the lesions of

the nasal tissues of rabbits with mild RS. According to this indicator, it probably exceeded the activity of BNO-101 (4.0 points, respectively, which corresponds to the damage to the tissues of the nasal cavity of moderate severity). It was proved that Enisamium iodide (nasal spray) 10 mg/mL according to the semi-quantitative evaluation results also significantly exceeded the activity of BNO-101 on the 25th day of the study on such an indicator as «the maxillary sinus ostium state» (0 - physiological norm and 1 - mild RS), which is the main predictor of the development of a certain clinical form of RS. It is proved that the probable high efficiency of EISN 10 mg/mL is due primarily to the local anti-inflammatory action and intranasal route of administration, which provides faster development of this action in the treatment of ARS. According to the results of histomorphological studies, there is a probable therapeutic effect, which is manifested by a decrease in inflammatory and destructive signs in the epithelium of the mucous membranes of the nasal cavity and paranasal sinuses of animals. When performing a morphological semi-quantitative assessment, the mean score was 1.5 in the group of animals treated with Enisamium iodide (nasal spray) 10 mg/mL and 2.0 in the group of animals treated with BNO-101. It should be noted that according to this indicator Enisamium iodide is not likely inferior to the activity of the comparison drug BNO-101, which is a known treatment for rhinosinusitis in the domestic pharmaceutical market. Thus, it is proved that the probable high efficiency of EISN 10 mg/mL is due primarily to the local anti-inflammatory action of the test drug and intranasal route of administration, which provides faster development of this effect in the treatment of ARS. The results of the study of safety and tolerability of EISN 10 mg/ml with dose escalation in the topical application in phase I clinical trials in healthy volunteers at different dosing regimens (dose from the lowest possible to daily dose) indicate good local tolerability and safety of use of Enisamium Iodide.

Summarizing the obtained results, it is possible to conclude that EISN10 mg/mL is a promising medicine with polyvalent pharmacodynamics for further preclinical and clinical studies to expand the of native drugs' range for appropriate medicine of ARS treatment and its optimization.

Key words: experimental rhinosinusitis, Enisamium iodide (nasal spray), acute toxicity, acute local drug-induced irritant action, anti-inflammatory activity, analgesic activity, nasal endoscopy, safety, tolerability, effectiveness.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АА – аналгетична активність;
в/ш – внутрішньошлунково;
ГРС – гострий риносинусит;
ЕЙСН – Енісаміум йодид спрей назальний;
ІК – інтактний контроль;
і/н – інтраназально;
КД – клінічне дослідження;
КДЦ – Клініко-діагностичний центр;
КП – контрольна патологія;
ОМК – остіомеатальний комплекс;
НФаУ – Національний фармацевтичний університет;
ПБЧ – поріг больової чутливості;
ПЗА – протизапальна активність;
ПР – побічна реакція;
РС – Риносинусит;
EINS – Enisamium iodide (nasal spray).