

Міністерство охорони здоров'я України  
Національний фармацевтичний університет

ЗІМІН СТАНІСЛАВ МИХАЙЛОВИЧ

УДК: 615.012:542.9+615.272+615.276

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ  
НОВОГО КОМБІНОВАНОГО ТОПІЧНОГО КРЕМ-ГЕЛЮ  
ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ СУГЛОБІВ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних 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 медичних наук,  
член-кореспондент НАН і НАМН України, професор  
**ЧЕКМАН Іван Сергійович,**  
Приватний вищий навчальний заклад  
«Київський медичний університет УАНМ»  
МОН України, професор кафедри фармакології,  
патофізіології, клінічної фармакології і клінічної  
фармації, технології ліків

доктор фармацевтичних наук,  
старший науковий співробітник  
**ТУЛЯКОВ Владислав Олександрович,**  
Державна установа «Інститут патології хребта та  
суглобів ім. проф. М.І. Ситенка НАМН України»  
(м. Харків), провідний науковий співробітник відділу  
лабораторної діагностики та імунології

Захист відбудеться «10» лютого 2017 р. о 10 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 «30» грудня 2016 р.

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради Д.64.605.03,  
д. фарм. н., професор

Т.С. Сахарова

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Остеоартроз (ОА) – хронічне дегенеративно-дистрофічне захворювання суглобів, яке є одним з найпоширеніших у структурі патології опорно-рухової системи і частою причиною втрати працездатності (E. Nüesch et al., 2011; R. Jawahar et al., 2012; Р. М. Балабанова, 2013). Прямі й непрямі фінансові витрати суспільства, пов'язані з лікуванням та реабілітацією хворих на ОА, величезні (M.Gore et al., 2010; В.М. Коваленко та співавт., 2010; A. Chen et al., 2012).

Розробка нових високоефективних методів лікування і профілактики ОА є актуальною задачею сучасної експериментальної та клінічної фармакології, оскільки дозволить не тільки підвищити рівень соціальної активності і якість життя пацієнтів даного профілю, але і знизити витрати системи охорони здоров'я, пов'язані з їх забезпеченням (В.О.Туляков, 2012).

Лікування остеоартрозу спрямоване на зменшення/купірування болю і локального запалення, зниження частоти загострень, поліпшення якості життя, уповільнення темпів прогресування захворювання, зменшення ймовірності розвитку інвалідності (W. Zhang et al., 2010; И. В. Меньшикова, 2010; T. E. McAlindon et al., 2014).

Тільки тривале лікування, спрямоване на поліпшення функції основних тканин суглоба здатне привести до стійкого знеболюючого ефекту і поліпшення структур хрящової тканини (A. Guermazi et al., 2013; B. Gallagher et al., 2015; F. W. Roemer et al., 2015). Даним вимогам відповідають симптоматичні препарати повільної дії (SYSADOA), які крім симптом-модифікуючої дії володіють також хвороба-модифікуючою дією, за рахунок позитивного впливу на метаболічні процеси хрящової тканини і регенеративні можливості хондроцитів, знижують потребу в прийомі НПЗП і, що важливо, володіють доброю переносимістю і високою безпекою (Л. И. Алексеева, 2012; О. В. Любшина, 2012; J. Martel-Pelletier et al., 2013; I.S. Chekman et alt., 2016).

Найбільш вивченими серед таких препаратів є хондроїтин сульфат (ХС) і глюкозамін (ГА), ефективність яких доведена в численних клінічних дослідженнях (В.П. Черных, И.А. Зупанец. и соавт., 2008; J. M. Erickson, T. M. Messer, 2013; Y. Ucuncu et al., 2015) і які рекомендовані експертами EULAR і OARSI для лікування ОА (рівень доказовості ІА) (W. J. Bijlsma et al., 2012; О. А. Шавловская, 2012; T. E. McAlindon et al., 2014). Тим не менш, результати нечисленних досліджень з клінічної ефективності комбінації ХС/ГА в лікуванні ОА неоднозначні, а дані з порівняльної оцінки монокомпонентних і комбінованих препаратів, що містять ХС і ГА, залежно від локалізації процесу поодинокі та суперечливі (Н. А. Hall, 2011; C. Cerda et al., 2013; D. Ishimaru et al., 2014).

Локальній (місцевій) терапії при ОА, в тому числі із застосуванням мазей і гелів, відводиться особлива роль, оскільки саме вона в змозі забезпечити високу концентрацію лікарських засобів безпосередньо у вогнищі дегенеративного та запального ураження, що дозволяє при підвищенні ефективності зменшити сумарне лікарське навантаження (С.Е. Argoff, F. M. Gloth, 2011; Л. И. Алексеева, 2012; Н. Т. Lu et al., 2015).

У зв'язку з цим, в даний час науковий пошук у галузі розробки нових хондропротекторів спрямований на створення комбінованих препаратів. На сьогоднішній день найбільш перспективним напрямом є розробка хондропротекторних засобів локальної терапії остеоартрозу на основі комбінацій похідних ГА з ХС.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Роботу виконано у рамках науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природнього походження, їх застосування в медичній практиці» (держреєстрація №0103U000478) та «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (держреєстрація №0114U000956)

**Мета і задачі дослідження.** *Мета роботи* – експериментально обґрунтувати доцільність створення нового комбінованого протиартрозного препарату з поєднанням хондропротекторного, протизапального і анагетичного ефектів на основі глюкозаміну гідрохлориду (ГА г/х) та хондроїтину сульфату (ХС) і камфори та ментолу для оптимізації медикаментозної терапії ОА.

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

1. Провести скринінгові дослідження зразків комбінації глюкозаміну гідрохлориду, хондроїтину сульфату, камфори та ментолу у лікарській формі крем-гелю на моделі термічного запалення лапи мишей з метою визначення найбільш перспективного зразку.

2. Провести токсикологічні дослідження найбільш перспективного зразку комбінації, а саме: гостру токсичність, сенсibiliзуючу, шкірно-резорбтивну та місцевопоздразнювальну дії.

3. Дослідити протизапальну дію найбільш перспективного зразку комбінації глюкозаміну гідрохлориду, хондроїтину сульфату, камфори та ментолу у лікарській формі крем-гелю на експериментальних моделях запалення, викликаного різними флогогенами.

4. Визначити анагетичну дію найбільш перспективного зразку комбінації глюкозаміну гідрохлориду, хондроїтину сульфату, камфори та ментолу у лікарській формі крем-гелю в тесті «гаряча пластина», на експериментальних моделях індукованої та спонтанної больової реакції.

5. Оцінити вплив найбільш перспективного зразку комбінації на морфологічні та біохімічні показники тварин за умов відтворення ОА, індукованого введенням дексаметазону.

*Об'єкт дослідження.* Дистрофічно-запальні захворювання суглобів.

*Предмет дослідження.* Хондропротекторна, протизапальна, анагетична активність комбінації глюкозаміну гідрохлориду та хондроїтину сульфату з камфорою та ментолом у формі крем-гелю.

**Методи дослідження.** При виконанні роботи використані фармакологічні, токсикологічні, біохімічні, морфологічні (світлова і електронна мікроскопія) і математико-статистичні методи.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено новий підхід до створення комбінованих засобів

місцевого лікування дистрофічно-запальних захворювань суглобів, який полягає у комбінуванні хондропротекторних компонентів (ГА г/х та ХС) зі знеболюючими охолоджуючої та місцевопіддразнювальної дії (камфора та ментол).

За результатами фармакологічного скринінгу обрано найбільш перспективний зразок комбінації ГА г/х з ХС у кількості 5,0 г на 100 г крем-гелю кожного, який виявив найбільшу протизапальну активність – 42,75% та отримав умовну назву крем-гель «Хондролайф».

Доведено, що новий комбінований крем-гель «Хондролайф» належить до VI класу токсичності речовин за класифікацією К. К. Сидорова (1973), не виявляє сенсibiliзуючої, токсичної шкірно-резорбтивної та місцевопіддразнювальної дії.

Доповнено наукові дані про механізми протизапальної дії комбінованого крем-гелю «Хондролайф» на моделях ексудативного запалення, які полягають у пригніченні виділення медіаторів запалення – простагландинів та лейкотриєнів, а також за рахунок мембраностилізувальних властивостей. Ці дані підтверджуються результатами вивчення антиексудативної активності, а саме найвища антиексудативна активність спостерігалась на моделі карагенінового набряку – 41,7%, на моделі гістамінового набряку – 38,7%, на моделі зимозанового набряку – 32,8 та на моделі серотонінового набряку – 24,04%. Крем-гель «Хондролайф» виявляє виразну антипроліферативну активність – 27,2%, що майже вдвічі перевищило показник препарату порівняння «Диклак гелю».

Розширено наукові дані про особливості аналгетичної дії крем-гелю «Хондролайф» на моделях формування центрального та периферичного механізмів болю. В тесті «гаряча пластина» (центральный механізм формування болю) відбувалося подовження часу латентного періоду реакції облизування лапки (ЛПРОЛ) більше, ніж у 2 рази: 31,2 с проти 14,4 с у групі контрольної патології ( $p < 0,05$ ), при вивченні індукованої больової реакції на моделі запальної гіперальгезії у щурів (периферичний механізм формування болю) аналгетична активність склала 30,2%, а спонтанної больової реакції на моделі гострого гонартиту, яка також є моделлю периферичного механізму болю, – 27,7%. Наведені дані дозволяють припустити наявність як центрального, так і периферичного компонентів в аналгетичній дії нового комбінованого крем-гелю «Хондролайф».

Удосконалені уявлення про хондропротекторну дію нового комбінованого крем-гелю «Хондролайф» на моделі системного стероїдного артрозу (ССА). Хондропротекторна дія реалізується за рахунок поліпшення метаболічних процесів у суглобовому хрящі, що підтверджується вірогідним підвищенням вмісту N-ацетилглюкозаміну у гомогенаті суглобового хряща до 0,207 мг/г. На користь цього також свідчить поліпшення морфологічної структури суглобового хряща, що віддзеркалене у показниках системи напівкількісної морфометричної оцінки стану суглобового хряща: крем-гель «Хондролайф» - 21,5 балів, що у 1,2 рази більше ніж у препарату порівняння «Хондроксид» гелю (17,3 балу,  $p < 0,05$ ) та за даними електронної мікроскопії.

Доведено, що комбінацію ГА г/х, ХС, камфори та ментолу у лікарській формі крем-гелю за підсумками проведених досліджень можна класифікувати як лікарський засіб з хондропротекторними, протизапальними і аналгетичними властивостями.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати дисертаційної роботи обґрунтовують доцільність створення нових комбінованих лікарських засобів хондропротекторної дії, шляхом поєднання хондротокторних компонентів зі знеболюючими охолоджувальної та місцевопоздразнювальної дії (інформаційний лист МОЗ України № 217-2016, 2016 р.).

Результати дисертаційної роботи є фрагментом доклінічного вивчення комбінованого крем-гелю ГА г/х, ХС, камфори та ментолу (звіт про НДР «Доклінічне вивчення хондропротекторних властивостей препарату «Хондролайф» крем гель на моделі системного стероїдного артрозу у щурів», 24.11.2010). Дисертант є співвиконавцем цієї НДР.

Основні результати досліджень впроваджені в науково-педагогічний процес кафедр фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол №6 від 19.09.2016 р.), фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол №5 від 15.11.2016 р.), кафедри фармакології та медичної рецептури Харківського національного медичного університету (протокол №6 від 21.11.2016 р.), у науково-виробничій процес ПАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод» (протокол від 23.11.2016 р.).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Сумісно з керівником здобувачем здійснено патентно-інформаційний пошук, проведено аналіз даних сучасної вітчизняної і зарубіжної науково-медичної літератури з проблеми етіопатогенезу ОА. Виконано експериментальне фармакологічне і біохімічне вивчення специфічної (хондропротекторної, протизапальної, аналгетичної) активності, гострої токсичності комбінації глюкозаміну гідрохлориду і хондроїтину сульфату з камфорою та ментолом у формі крем-гелю. Морфологічні дослідження проведені на базі кафедри гістології, цитології та ембріології Харківського національного медичного університету під керівництвом доцента кафедри Т.В. Десвої, електронно-мікроскопічні - на базі лабораторії патоморфології з групою електронної мікроскопії ДУ «Інститут медичної радіології НАМН України ім. С.П. Григор'єва» під керівництвом старшого наукового співробітника О.П. Лукашової. Проведено статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, сформульовано висновки дисертації.

У працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить значна частина фактичного матеріалу і основного творчого доробку: результати власних та виконаних у співавторстві експериментальних досліджень, участь в аналізі та узагальненні отриманих даних, підготовка наукових робіт до друку.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на Національному конгресі «Клінічна фармація: 20 років в Україні» (Харків, 2013), XX Російському національному конгресі «Человек и лекарство» (Москва, 2013), міжнародній науково-практичній конференції «Роль та місце медицини у забезпеченні здоров'я людини у сучасному суспільстві» (Одеса, 2013), міжнародній науково-практичній конференції «Ключові питання наукових досліджень у сфері медицини у XXI ст.» (Одеса, 2014), XXI Російському національному конгресі «Человек и лекарство» (Москва, 2014), міжнародній науково-

практичній конференції «Роль та місце медицини у забезпеченні здоров'я людини у сучасному суспільстві» (Львів, 2014), міжнародній науково-практичній конференції «Сучасна медицина: актуальні проблеми, шляхи вирішення та перспективи розвитку» (Одеса, 2014), міжнародній науково-практичній конференції «Медична наука та практика: актуальні питання взаємодії» (Київ, 2014), науково-практичній конференції «Актуальные вопросы современной фундаментальной и клинической медицины», (Ханти-Мансійськ, 2014), VIII національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (Харків, 2016).

**Публікації.** За матеріалами даної дисертації опубліковано 16 друкованих робіт, з них 4 статті у наукових фахових виданнях з переліку МОН України, 2 статті у закордонних виданнях, 9 тез у матеріалах науково-практичних конференцій, 1 інформаційний лист.

**Обсяг та структура дисертації.** Загальний обсяг дисертації складає 172 сторінки друкованого тексту. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури (розділ 1), матеріалів та методів досліджень (розділ 2), опису експериментальних досліджень (3, 4, 5 розділи), аналізу й узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел. Робота ілюстрована 24 таблицями, 35 рисунками. Список використаних джерел містить 253 найменувань, з них 139 – латиницею, 114- кирилицею.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали та методи дослідження.** На початку дослідження для скринінгу було надано 6 варіантів комбінації, що містили у 100 г: камфори 3,2 г, ментолу 0,5 г та відрізнялися кількісним вмістом досліджуваних хондропротекторних компонентів (ГА г/х у кількостях 2,5 та 5,0 г/ 100 г та у співвідношеннях з ХС 1:1, 1:2 та 2:1). Предметом дослідження було обрано найбільш перспективний варіант композиції, який має наступний склад (г/100 г): діючі речовини: глюкозаміну гідрохлорид (ГА г/х) 5,0 г, хондроїтину сульфат (ХС) 5,0 г, камфора 3,2 г, ментолу 0,5 г; допоміжні речовини: крем-гелева основа до 100 г. Оригінальний крем-гель був розроблений під керівництвом проф. М. О. Ляпунова та отримав умовну назву «Хондролайф».

В якості препарату порівняння був використаний препарат «Хондроксид» гель в тубах по 30 г виробництва ВАТ «Нижфарм» (STADA CIS, Росія), що містить 5,0 г хондроїтину сульфату в 100 г гелю. У дослідженні також був застосований «Диклак гель», що містить у 100 г гелю 5 г диклофенаку натрію (Салютас Фарма ГмбХ, Німеччина для Сандоз Фармасьютікалз д.д., Словенія).

Фармакологічні дослідження композиції проведені на мишах, щурах, мурчаках та кролях, які були вирощені у розпліднику ЦНДЛ НФаУ (посвідчення ДЕЦ МОЗ України № 21 від 30.04.2009 р.) та утримувались на стандартному раціоні у відповідності до санітарно-гігієнічних норм (Ю. М. Кожем'якін та співавт., 2002).

Скринінг досліджуваних варіантів композиції проводили за протизапальною дією на моделі термічного запалення лапи мишей (О.В. Стефанов і співавт., 2002). Для скринінгових досліджень з метою вибору

найбільш перспективного варіанту крем-гелю вивчалися шість варіантів комбінації, що містили у 100 г: камфори 3,2 г, ментолу 0,5 г та відрізнялися кількісним вмістом хондропротекторних компонентів (ГА г/х у кількостях 2,5 та 5,0 г/ 100 г та у співвідношеннях з ХС 1:1, 1:2 та 2:1 ). Основні етапи дослідження представлені на рис. 1.

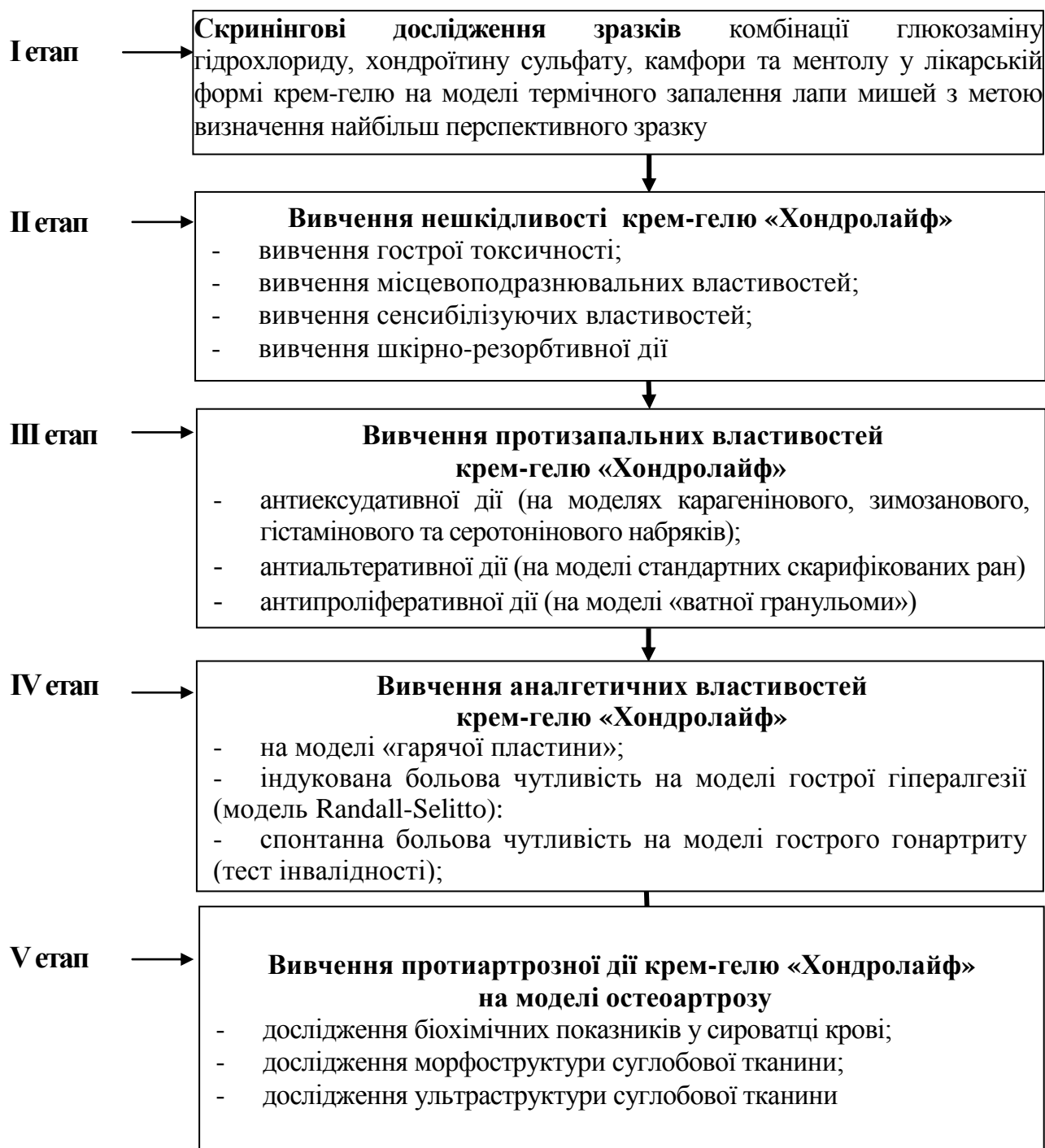


Рис. 1 Етапи та основні методи фармакологічного дослідження

Проведено вивчення токсикологічних властивостей найбільш перспективного варіанту крем-гелю: гострої токсичності, місцевоподразнювальної, сенсibiliзуючої та шкірно-резорбтивної дії. Гостру



токсичність вивчали за методом Пастушенко Т.В. (1985) на нелінійних статевозрілих білих щурах обох статей масою 180-230 г при одноразовому нашкірному нанесенні на площі від 10% до 50% поверхні тіла щура та внутрішньошлунковому введенні, використовуючи 2 та 4 рівні доз відповідно (О.В. Стефанов і співавт., 2002). Оцінку токсичності проводили за загальноприйнятою класифікацією К. К. Сидорова (1973). Місцевоподразнювальна дія досліджуваного препарату вивчена з використанням тесту «кон'юнктивальна проба», сенсibiliзуюча – методом нашкірних аплікацій (О.В. Стефанов і співавт., 2002). Шкірно-резорбтивну дію оцінювали за зміною показників периферичної крові (О.В. Стефанов і співавт., 2002), які визначали загальноприйнятими методами лабораторної діагностики. Антиексудативну активність крем-гелю «Хондролайф» оцінювали на моделях ексудативного запалення, викликаного карагеніном, зимозаном, гістаміном та серотоніном (О.В. Стефанов і співавт., 2002). Дослідження антиальтеративної активності композиції проведено на моделі стандартних скарифікованих ран у щурів, антипроліферативної дії – на моделі «ватної» гранулеми у білих щурів (О.В. Стефанов і співавт., 2002).

На четвертому етапі роботи анальгетичну активність крем-гелю «Хондролайф» вивчали на моделі гострої болі в тесті «гарячої пластини» та на моделі карагенін-індукованої гострого гонартриту у щурів за впливом на виразність спонтанного (за допомогою «тестера інвалідності») та на моделі гострої гіпералгезії за впливом на індукований больовий синдром (модель Randall-Selitto) (Т.А. Бухтіарова, 2009) з використанням анальгезиметру (Ugo Basile, тип 37215, Італія), розвиток спонтанного больового синдрому у тварин з карагенін-індукованим гострим гонартритом та розподіл навантаження на задні кінцівки досліджували за допомогою «тестера інвалідності» Incapacitance Tester MkV („Linton Instrumentation”, Велика Британія).

Дослідження протиартрозної дії крем-гелю «Хондролайф» було здійснено на моделі системного стероїдного остеоартрозу (І.А. Зупанець та співавт., 1999). Визначали наступні біохімічні показники: вміст сіалових кислот у сироватці крові методом Гесса (В. С. Камишніков та співавт., 2003), вміст глікопротеїнів (ГП) в сироватці крові методом Штейнберга-Доценко (В. С. Камишніков та співавт., 2003), вміст хондроїтинсульфатів у сироватці крові за Л. В. Слуцьким (1969), вміст загальної суми та фракцій ГАГ у сироватці крові методом М. Р. Штерна і співавт. (1982) у модифікації Леонтєвої Ф.С. і співавт. (2007), а також вміст ендогенного N-ацетилглюкозаміну (N-ацГА) у сироватці крові (загальна, вільна і зв'язана фракції) і тканинах суглобового хряща (по реакції взаємодії гексозамина з ацетилацетоном та реактивом Ерліха у спиртовому середовищі) (І. А. Зупанець та співавт., 2005). Досліджувані показники враховували у вигляді вихідних даних, для чого використовували інтактних тварин, а також за станом на 28 (для групи контрольної патології) і 56 добу дослідження.

Для вивчення впливу досліджуваного крем-гелю на структуру хрящової тканини на 56 добу експерименту проводили гістоморфологічне дослідження суглобових тканин стандартними методами світлової мікроскопії (Саркисов Д.С., Перов Ю.Л., 1996). Для об'єктивізації отриманих даних проводили морфометричні вимірювання - визначали товщину хряща, яка вимірювалася в 3-х точках – центральна частина

голівки, верхній і нижній край. Стан суглобового хряща та капсули суглоба оцінювали за бальною системою Н.І. Mankin (1957). Дослідження ультраструктури суглобового хряща щурів проводили за допомогою стандартних методів електронної мікроскопії (G. Romhanyi, 1963; V.S. Constantine, 1968).

Статистичну обробку даних здійснювали з використанням параметричного критерію t-Стюдента, непараметричного критерію Уїтні-Манна (Mann-Whitney U Test). Нормальність розподілу перевіряли з використанням тесту Колмогорова-Смирнова. Вірогідними вважали різниці з рівнем значимості більше 95 % ( $p < 0,05$ ). Порівняльний аналіз в групах проводили за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA. Системний аналіз ефективності досліджуваних препаратів проведений за допомогою методу кореляційних структур (А. М. Зосимов, 2000). Виходячи з даних кореляційної структури, визначали коефіцієнт лабілізації (синхронізації) та показник системоутворення.

**Результати та їх обговорення.** В результаті скринінгових досліджень протизапальної активності різних варіантів комбінації на моделі термічного запалення лапи у мишей найбільш перспективним варіантом визнано співвідношення ГА г/х (5 /100 г) з ХС (5 г/100 г) 1:1, при якому протизапальна активність сягає 42,8%. Ця композиція, яка отримала умовну назву «Хондролайф» крем-гель, проявляла ефект в 1,5 рази сильніше, ніж препарат порівняння «Хондроксид» гель (42,8% против 28,6% відповідно ( $p < 0,05$ )).

У результаті вивчення гострої токсичності встановлено відсутність летальності щурів при рівнях доз крем-гелю «Хондролайф» 5000 мг/кг при внутрішньошлунковому введенні та при нашкірному нанесенні на 10-50% площі поверхні тіла щурів із розрахунку 25 мг/см<sup>2</sup>. Відповідно до класифікації К.К. Сидорова (1973) досліджувана комбінація може бути віднесена до VI класу токсичності – відносно нешкідливі речовини.

Вивчення протизапальної дії за оцінкою впливу крем-гелю «Хондролайф» на перебіг запального процесу з переважним ексудативним механізмом на моделях гострого карагенінового (протизапальна активність (ПА) – 43,7%), зимозанового (ПА – 32,8%), гістамінового (38,9%) та серотонінового (ПА – 24%) набряків лапи у щурів виявило наявність вираженого антиексудативного компонента протизапального ефекту крем-гелю «Хондролайф», який дещо поступається протизапальній дії «Диклак гелю». За результатами досліджень встановлено, що крем-гель «Хондролайф» має комплексний механізм протизапальної дії, який реалізується ймовірно, насамперед за рахунок мембраностабілізуючих властивостей, притаманних ГА г/х (С.К. Шебеко, 2006).

Дані досліджень антипроліферативної активності на моделі «ватної гранульоми» показали, що крем-гель «Хондролайф» достовірно пригнічує утворення грануляційної тканини в осередку запалення та його антипроліферативна активність (27,2%) майже вдвічі перевищила активність «Диклак гелю» (14,7%) ( $p < 0,05$ ).

При вивченні анальгетичної активності (АА) виявлено, що при нашкірному нанесенні досліджувані засоби достовірно збільшували латентний період реакції

облизування лапок (ЛП РОЛ). При цьому АА крем-гелю «Хондролайф» (28,2%) достовірно перевищує дію «Хондроксид» гелю (18,4%) у 1,5 рази ( $p < 0,05$ ) і практично не поступається ефективності «Диклак гелю» (30,8%) (рис. 2А) Можливо, це пов'язано з тим, що в структуру крем-гелю «Хондролайф» входять ГА г/х, камфора та ментол. Одним з можливих механізмів АА ГА г/х, а також комбінацій на його основі, може бути блокада іонів кальцію (М.Н. Gilzad-Kohan, 2012), а також охолоджувальний ефект ментолу та камфори (Н. Н. Andersen, 2016), що входять до складу цієї комбінації.

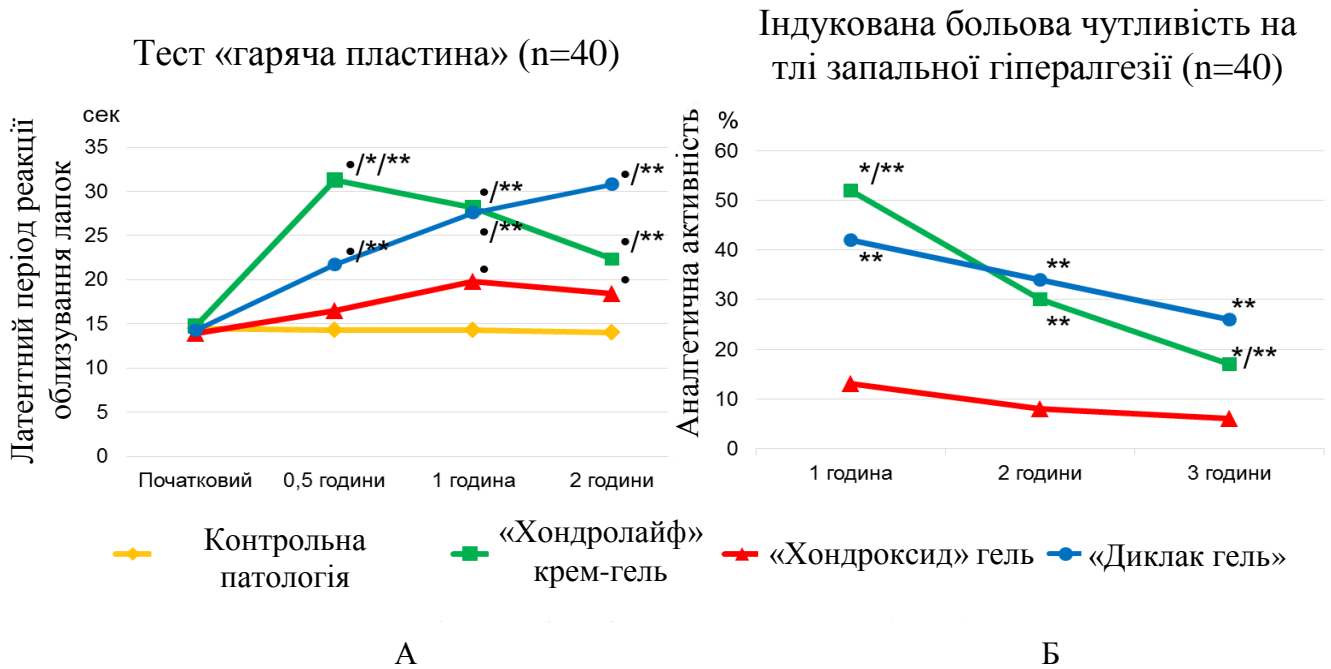


Рис. 2 Антиноцицептивна активність крем-гелю «Хондролайф» на моделях «гарячої пластини» та гострої запальної гіпералгезії

Примітка. \* - достовірно відносно групи «Диклак гелю», ( $p < 0,05$ ); \*\* - достовірно відносно групи «Хондроксид» гелю ( $p < 0,05$ ); • - достовірно відносно групи контрольної патології ( $p < 0,05$ )

Максимальне зниження порога больової чутливості було визначено через 2-3 год після ін'єкції карагеніну (поріг больової чутливості запаленої лапи 20-30 г, що відповідає зниженню в порівнянні з вихідною величиною на 65-80%). Крем-гель «Хондролайф» проявив високій рівень аналгетичної активності (52%), таким чином досліджувана комбінація перевищує препарати порівняння «Хондроксид» гель (13,2%) та «Диклак гель» (42,8%) ( $p < 0,05$ ) (рис.2Б).

У тесті розподілу навантаження на задні кінцівки у тварин з карагенін-індукованим гонартритом виникає асиметрія в утриманні ваги тіла з більш активним використанням інтактної кінцівки. У тварин всіх експериментальних груп формувалася тенденція до зниження домінування упору на здорову кінцівку – у групах, які отримували крем-гель «Хондролайф» та «Диклак гель», тварини практично повністю відновлювали баланс розподілу ваги. Отже, крем-гель «Хондролайф» показав значно кращий антиноцицептивний ефект (27,7%) в

порівнянні з препаратом «Хондроксид» гель (7,04%) ( $p < 0,05$ ) та не поступається антиноцицептивній активності «Диклак гелю» (25,04%) (табл. 1).

Таблиця 1

**Вплив крем-гелю «Хондролайф» на спонтанну больову реакцію на моделі карагенін-індукованого гострого гонартриту у щурів**

Умови досліджу	n	Індекс інвалідності (DI), %	Анальгетична активність (AA), %
На 6 годину експерименту (через 1 годину після нанесення досліджуваних засобів)			
Контрольна патологія	10	73,9 ± 1,8	0
Крем-гель «Хондролайф»	10	53,4 ± 2,0*/**	27,74±0,53*/**/*
Гель «Хондроксид»	10	68,7 ± 1,6 <sup>•</sup>	7,04±0,36
«Диклак гель»	10	55,4 ± 2,4*/**	25,04±0,63*/**
На 7 годину експерименту (через 2 години після нанесення досліджуваних засобів)			
Контрольна патологія	10	70,7 ± 1,6	0
Крем-гель «Хондролайф»	10	60,4 ± 2,0*/**	14,57±0,47*/**/*
Гель «Хондроксид»	10	66,4 ± 2,0 <sup>•</sup>	6,08±0,71
«Диклак гель»	10	53,6 ± 2,4*	24,19±0,65*/**

Примітка. \*- відхилення достовірно щодо групи контрольної патології,  $p < 0,05$ ; \*\* – відхилення достовірно щодо препарату порівняння «Хондроксид» гель,  $p < 0,05$ ; • – відхилення достовірно щодо препарату порівняння «Диклак гель»,  $p < 0,05$ ; n – кількість тварин у групі

З метою вивчення хондропротекторної активності досліджуваного крем-гелю було проведено вивчення біохімічних показників та стану морфо- та ультраструктури хряща колінного суглоба щурів за станом на 28 та 56 добу експерименту в умовах відтворення системного стероїдного артрозу.

Після введення дексаметазону у щурів контрольної групи відбувалося достовірне збільшення вмісту всіх досліджуваних метаболітів суглобового хрящу порівняно з групою інтактного контролю за станом на 28 добу експерименту, що підтверджує розвиток патологічного процесу сполучної тканини (табл.2).

Надалі ця тенденція зберігалася і через 56 діб після початку дослідження рівень ХС і ГП був збільшений відповідно в 1,4 і 1,5 рази відносно інтактного контролю. Під впливом крем-гелю «Хондролайф» спостерігалася помірне зниження вмісту всіх маркерів обміну сполучної тканини у сироватці крові тварин, особливо ХС. За впливом на вміст основних метаболітів сполучної тканини в сироватці крові щурів з ССА крем-гель «Хондролайф» проявив тенденцію до вищої активності, ніж гель «Хондроксид».

Найважливішим біохімічним показником, що характеризує інтенсивність патологічних змін у суглобових тканинах тварин на тлі розвитку ОА, є загальна сума і фракції ГАГ у сироватці крові щурів (І. А. Зупанець, 2014). Аналіз наведених даних свідчить про те, що у інтактних тварин на фракцію гиалуронатів та хондроїтин-6-сульфатів припадає 60% від загальної суми ГАГ, на фракцію хондроїтин-4-сульфатів – 33,5% і на фракцію високосульфатованих ГАГ – 6,5%. При розвитку патології (28 доба експерименту) спостерігалось не тільки достовірне збільшення суми ГАГ у порівнянні з інтактними тваринами, але і зміна процентного співвідношення фракцій – на частку хондроїтин-4-сульфатів доводилося вже 40% від загальної суми ГАГ. І надалі, по мірі розвитку патології (56 доба експерименту) дана тенденція зберігалася. Збільшення загальної суми ГАГ у порівнянні з даними інтактних тварин зазначалося в 1,4 рази, переважно за рахунок хондроїтин-4-сульфатів, оскільки на дану фракцію припадало понад 43% від загальної суми ГАГ.

Таблиця 2

**Вміст метаболітів сполучної тканини  
в сироватці крові щурів з експериментальним артрозом**

Умови досліджу	Хондроїтин-сульфати, г/л	Глікопротеїни, г/л	Сіалові кислоти, ммоль/л
Інтактний контроль (n=10)	0,311±0,019	2,78±0,16	3,85±0,18
28 доба			
Контрольна патологія(n=10)	0,406±0,024*	3,88±0,28*	5,14±0,32*
56 доба			
Контрольна патологія (n=10)	0,425±0,026*	4,15±0,38*	4,83±0,19*
Крем-гель «Хондроліф» (n=10)	0,371±0,016*	3,94±0,35*	4,59±0,30*
Гель «Хондроксид» (n=10)	0,407±0,036*	4,18±0,37*	4,78±0,42*

Примітка. \* – відхилення достовірно щодо інтактного контролю,  $p < 0,05$ ; n – кількість тварин у групі

Аналіз наведених даних свідчить про те, що в нормі у інтактних тварин на фракцію гиалуронатів та хондроїтин-6-сульфатів припадає 60% від загальної суми ГАГ, на фракцію хондроїтин-4-сульфатів – 33,5% і на фракцію високосульфатованих ГАГ – 6,5%. При розвитку патології (28 доба експерименту) спостерігалось не тільки достовірне збільшення суми ГАГ у порівнянні з інтактними тваринами, але і зміна процентного співвідношення фракцій – на частку хондроїтин-4-сульфатів доводилося вже 40% від загальної суми ГАГ. І надалі, по мірі розвитку патології (56 доба експерименту) дана тенденція зберігалася. Збільшення загальної суми ГАГ у порівнянні з вихідними даними зазначалося в 1,4 рази, переважно за рахунок хондроїтин-4-сульфатів, оскільки на дану фракцію припадало понад 43% від загальної

суми ГАГ. При нанесенні на шкіру суглобів тварин крем-гелю «Хондролайф» відбувалося помірне зниження загальної суми ГАГ, не тільки за рахунок зменшення хондроїтин-4-сульфатів, а також за рахунок зменшення фракції хондроїтин-6-сульфатів, вміст яких досяг рівня інтактних тварин.

У разі застосування для лікування тварин крем-гелю «Хондролайф» відзначалася позитивна динаміка вмісту N-ацГА у сироватці крові щурів у всіх фракціях, оскільки отримані показники мали тенденцію до нормалізації без достовірних відмінностей, як від групи контрольної патології, так і від групи інтактного контролю (за винятком вільної фракції). При цьому рівень вільного N-ацГА збільшувався на 16% порівняно з нелікованими тваринами, що, в свою чергу, свідчить про збільшення регенераторного потенціалу хрящової тканини у щурів даної групи (І. А. Зупанець та співавт., 2012).

Доведено, що за впливом на вміст N-ацГА у суглобовому хрящі крем-гель «Хондролайф» у 1,2 рази перевищує дію «Хондроксид» гелю, що говорить про більшу ступінь впливу першого на зниження інтенсивності деструктивних процесів у тканинах колінних суглобів тварин з ОА і підвищення регенераторних можливостей суглобового хряща (І. А. Зупанець, 2014).

Слід зазначити, що позитивна динаміка показників обміну ендogenous N-ацГА, яка більшою мірою спостерігалася при введенні досліджуваного об'єкта пов'язана з наявністю в його складі вільного аміноцукру ГА г/х, що обумовлює трансдермальне екзогенне надходження даного гексозаміна в організм тварин і, в першу чергу, в тканини колінних суглобів.

Аналіз результатів гістологічного дослідження колінних суглобів щурів, проведеного на 56 день експерименту, дозволяє зробити висновок про те, що в суглобах щурів під впливом дексаметазону виникають морфологічні маркери ранніх стадій остеоартрозу: зниження клітинної щільності; дистрофічні зміни хондроцитів; багатоклітинні ізогенні групи, що чергуються зі спустошеними ділянками; нерівномірне забарвлення матриксу; патологічна васкуляризація та осифікація хряща в місцях, де є зміни; узурованість суглобової поверхні; зміни в синовіальних оболонках; осередковий лізис кісткової і фіброз мієлоїдної тканин (рис. 3а). Встановлено зниження показника товщини хряща (88% від показників інтактних тварин) та суми балів при напівкількісній оцінці стану хряща (в середньому 12,7 ум. од. проти 15,33 ум. од. у інтактних тварин).

Нашкірне нанесення досліджуваного крем-гелю «Хондролайф» істотно знижує вираженість патологічних процесів у суглобовому хрящі щурів з ССА. Свідченням цього є морфометричні показники, які демонструють позитивну динаміку. Товщина суглобового хряща відновлюється до величин інтактних тварин (в середньому становила 16,0 ум. од.), а щільність розташування хрящових клітин достовірно перевищував рівень контрольної патології на 40% (30,46 проти 21,90 примірників на ум. од. площі). При цьому також спостерігається зменшення (до 30% порівняно з групою контрольної патології) кількості мікропрепаратів, в яких виявляються відхилення від норми. При цьому морфометричні дані корелюють з особливостями морфологічної структури суглобового хряща. Як наслідок цього, поверхня хряща стає більш рівною, без ознак розволокнення, стан

цитоархітектоніки нормалізується, забарвлення матриксу стає більш рівномірним, дистрофічних змін у хондроцитах при цьому не спостерігається (рис. 3в).

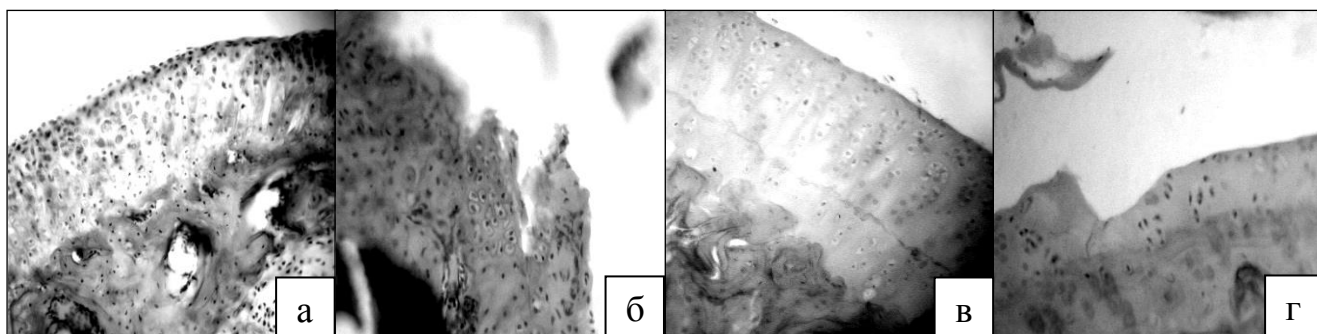


Рис. 3. Морфоструктура суглобових тканин щурів на 56 добу експериментального ССА: а – інтактний контроль; б – контрольна патологія; в – крем-гель «Хондролайф»; г – «Хондроксид» гель. Гематоксилін-еозин, х 200

Таким чином, застосування досліджуваного препарату у тварин з експериментальним артрозом призводить до нормалізації морфоструктури суглобових тканин. При цьому за ступенем позитивного впливу препарату крем-гель «Хондролайф» перевершує рівень хондропротекторної активності препарату порівняння гелю «Хондроксид», під впливом якого також виявляється позитивний вплив на структуру суглобових тканин з формуванням помірно виражених патологічних змін у хрящовій тканині та капсулі суглоба (нерівномірність забарвлення матриксу, формування «паннусу», нейтрофільна інфільтрація) (рис 3г) порівняно з групою контрольної патології (рис. 3б).

Аналіз результатів дослідження ультраструктури хрящової тканини дозволяє зробити висновок про те, що в хрящовій тканині щурів під впливом триразового введення дексаметазону виникають морфологічні прояви ранніх стадій остеоартрозу, що полягають переважно в порушенні біосинтетичної активності хондроцитів, розвитку в них дегенеративно-дистрофічних змін, посиленні клітинної загибелі шляхом хондроптозу, а також деструкції хрящового матриксу (рис. 4б).

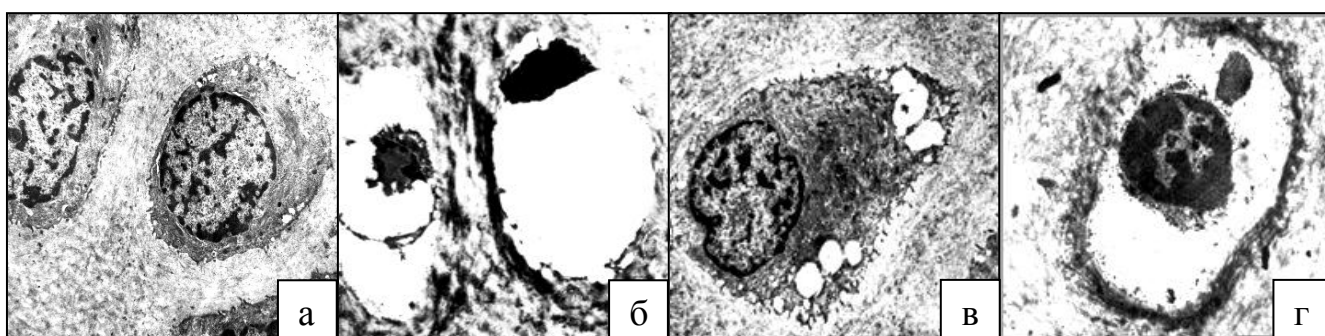


Рис. 4. Ультраструктура суглобових тканин щурів на 56 добу експериментального ССА: а – інтактний контроль; б – контрольна патологія; в – крем-гель «Хондролайф»; г – «Хондроксид» гель. х 12000

Використання у тварин досліджуваного крем-гелю «Хондролайф» викликає збільшення вмісту в клітинному ядрі хондроцитів диспергованого хроматину, в

цитоплазмі мембранних структур гладкої і гранулярної ЕПМ, пластинчастих комплексів Гольджи. Це ж підтверджується ультраструктурною організацією хрящового матриксу у вигляді впорядкованих колагенових фібрил і ниток протеогліканів. Крім того, відзначено зникнення в мікропрепаратах хондроцитів, які перебувають на різних етапах клітинної загибелі та порожніх лакун (рис. 4в).

Результати дослідження ультраструктури хрящової тканини щурів з експериментальним артрозом під впливом крем-гелю «Хондролайф» свідчать, що під його впливом відбувається посилення біосинтетичних процесів у хондроцитах і нормалізація структури хрящового матриксу. При цьому досліджуваний препарат за ступенем позитивного впливу на ультраструктуру хрящової тканини перевершує рівень активності препарату порівняння гелю «Хондроксид», під впливом якого спостерігалось розволокнення колагенових фібрил, наявність порожніх лакун та окремих хондроцитів у стані «темноклітинної загибелі» - хондроптозу (рис. 4г) та групу контрольної патології (рис. 4б)

Був проведений системний аналіз ефективності досліджуваних препаратів за допомогою методу кореляційних структур, де системоутворюючими показниками виступають вміст гіалуронатів та хондроїтин-6-сульфату, загального ендогенного N-ацетилглюкозаміну, показник товщини хряща та латентний період реакції облизування лапок. Виявлено, що при застосуванні крем-гелю «Хондролайф» зв'язки між підсистемами та окремими елементами стають більш множинними: кількість загальних зв'язків зростає до 50,4%, що перевершує показник групи контрольних тварин в 2 рази та показник групи «Хондроксид» гелю на 40% ( $KL_3=36,15\%$ ), що свідчить про активізацію компенсаторних механізмів. При аналізі показника співвідношення внутрішньосистемних ( $KL_B$ ) і міжсистемних зв'язків ( $KL_M$ ) групи крем-гелю «Хондролайф» ( $KL_B/KL_M=0,88$ ) встановлено, що він менший за показники групи контролю на 45% та тварин групи «Хондроксид» гелю на 33% ( $KL_B/KL_M=1,3$ ), що свідчить про більш тісну інтеграцію компенсаторних механізмів..

Таким чином, в даній роботі теоретично та експериментально обґрунтовано доцільність створення комбінації на основі ГА г/х, ХС, камфори та ментолу для лікування запально-деструктивних захворювань суглобів, зокрема остеоартрозу. Встановлено, що досліджувана комбінація є відносно нешкідливою та ефективною, що обумовлює можливість її тривалого застосування в умовах клініки у пацієнтів з остеоартрозом.

## ВИСНОВКИ

Дисертаційна робота присвячена вирішенню однієї з актуальних проблем сучасної медицини – лікуванню дистрофічно-запальних захворювань суглобів, зокрема ОА, який є найбільш розповсюдженою патологією опорно-рухового апарату. У дисертаційній роботі наведено експериментальне дослідження хондропротекторних, протизапальних і анагетичних властивостей нової композиції на основі глюкозаміну гідрохлориду та хондроїтину сульфату, камфори та ментолу у лікарській формі крем-гелю для лікування запально-деструктивних захворювань суглобів, зокрема, остеоартрозу.



1. На моделі термічного запалення лапи у мишей експериментально встановлено оптимальне співвідношення субстанцій – глюкозаміну гідрохлорид та хондроїтину сульфат (1:1) у дозі 5,0 г/100 г кожний, камфори 3,2% та ментолу 0,5%, що виявило найбільш виражений антиексудативний ефект (42,75%).

2. За результатами токсикологічних досліджень крем-гель «Хондролайф» може бути віднесений до VI класу речовин за класифікацією К. К. Сидорова (1973) – при внутрішньолунковому введенні щурам та при наскірному нанесенні не спостерігалось загибелі тварин чи проявів токсичної дії. Встановлено відсутність алергізуючої, місцево-подразнювальної та токсичної шкірно-резорбтивної дії у відповідних експериментах.

3. Крем-гель «Хондролайф» проявляє антиексудативну дію на моделях запалення, викликаних різними флогогенами: карагеніном – 43,71% , зимозаном - 32,83%, серотоніном – 24,04% та гістаміном - 38,4%, що перевищувало показники препарату порівняння – «Диклак гелю» (на моделі гістамінового набряку), в інших була на одному рівні із засобом порівняння (карагенінове, серотонінове та зимозанове запалення). Антипроліферативна активність досліджуваної композиції склала 27,15%, що вірогідно перевищувало відповідний показник препарату порівняння – «Диклак гелю» (14,7%,  $p < 0,05$ ). Крем-гель «Хондролайф» виявляє помірну антиальтеративну дію.

4. Виразений аналгетичний ефект крем-гелю «Хондролайф» в тесті «гаряча пластина» у мишей перевищував відповідний показник засобу порівняння «Хондроксид» гелю у 1,5 рази та не поступався аналгетичному ефекту «Диклак гелю». На моделі індукованого больового синдрому – карагенін-індукованої гострої гіпералгезії у щурів – ефективність крем-гелю «Хондролайф» склала 52,1%, що перевищувало у 3,9 разів ефективність «Хондроксид» гелю 13,2% ( $p < 0,05$ ) та у 1,2 рази «Диклак гелю» 42,8% ( $p < 0,05$ ). На моделі спонтанної больової чутливості в умовах гострого гонартиту у щурів аналгетична активність крем-гелю «Хондролайф» склала 27,7%, що у майже у 4 рази вище за аналгетичну активність гелю «Хондроксид» (7,0 %,  $p < 0,05$ ) та однакова з «Диклак гелем» - 25,0%.

5. На моделі системного стероїдного артрозу показана висока хондропротекторна активність досліджуваної композиції, підтверджена результатами біохімічного, гістохімічного, гістоморфологічного дослідження та вивченням ультраструктури суглобового хряща. Так, за даними біохімічного дослідження сироватки крові щурів вміст хондроїтин сульфатів знизився на 15%, глікопротеїнів на 5%, вільного N-ацетилглюкозаміну підвищувався на 16%, в той же час вміст цього гексозаміну у гомогенаті суглобового хряща склав 0,205 мг/г, що у 1,4 рази вище, ніж у групі контрольної патології та дорівнює показникам інтактного контролю та вірогідно у 1,2 рази перевищує показники у групі, яким наносили гель «Хондроксид». Виявлено нормалізацію гістологічної та ультраструктурної картин суглобового хряща експериментальних тварин без значних патологічних змін, що віддзеркалене у напівкількісній оцінці стану суглобового хряща: сума балів 21,5 у тварин, що отримували крем-гель «Хондролайф» порівняно з 17,3 у тих, що отримували «Хондроксид» гель.

6. Проведене дослідження є експериментальним обґрунтуванням перспективності та доцільності подальшого клінічного вивчення засобу на основі досліджуваної комбінації з метою профілактичного та лікувального застосування у пацієнтів з запально-деструктивними захворюваннями суглобів.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Зупанец І. А. Доказательная медицина и фармация: экспериментальное изучение влияния оригинального комбинированного хондропротектора на течение системного стероидного артроза у крыс / И. А. Зупанец, С. М. Зимин // Український вісник психоневрології. – 2013. – Т.21, вип. 2 (75), додаток. – С. 149-154. *(Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті)*.
2. Зупанец І. А. Анализ эффективности оригинального комбинированного хондропротектора на модели системного стероидного артроза у крыс / И. А. Зупанец, С. М. Зимин // European applied sciences. – 2013. – №1 (10). - С. 48-51. *(Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті)*.
3. Зупанец І. А. Место хондропротекторов в терапии остеоартроза / И. А. Зупанец, С. М. Зимин // Annals of mechnikov institute. – 2014. – № 2. – С. 87-91 Режим доступу до журн. – URL: [http://http://www.imiamn.org.ua/journal/2\\_2014/zmist2\\_2014.htm](http://http://www.imiamn.org.ua/journal/2_2014/zmist2_2014.htm) *(Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті)*.
4. Зупанец І. А. Аналіз хондропротекторної активності оригінального комбінованого хондропротектора на моделі системного стероїдного артрозу у щурів / И. А. Зупанец, С.М. Зимин // Український вісник психоневрології. – 2014. – Т.22, вип. 2 (79), додаток. – С. 44-48. *(Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті)*.
5. Зупанец І. А. Особенности эффективности оригинального комбинированного хондропротектора на модели системного стероидного артроза у крыс / И. А. Зупанец, С. М. Зимин // Научный медицинский вестник Югры. – 2014. – № 1-2 (5-6). – С. 64-68. *(Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті)*.
6. Зупанец І. А. Терапевтическая эффективность оригинального комбинированного хондропротектора на модели системного стероидного артроза у крыс / И. А. Зупанец, С. М. Зимин // Актуальні проблеми сучасної медицини: вісник української медичної стоматологічної академії. – 2015. – Т.21, вип. 2 (75), додаток. – С. 196-201. *(Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті)*.
7. S. M. Zimin The study of the effects of “Chondrolife” combined cream-gel in the spontaneous pain sensitivity experiment / S. K. Shebeko, S. M. Zimin // Клінічна фармація. – 2016. – Т. 20, № 3 — С. 34-38 *(Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка та переклад на англійську мову статті)*
8. Сахарова Т. С. Влияние оригинального комбинированного хондропротектора на течение системного стероидного артроза у крыс / Т. С. Сахарова, Э. В. Супрун,

С. М. Зимин // XX Российский национальный конгресс «Человек и лекарство»: тезисы докладов, 15–19 апреля 2013 г., г. Москва. – Москва, 2013. – С. 423. *(Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).*

9. Экспериментальное изучение хондропротекторной активности оригинального комбинированного хондропротектора / С. М. Зимин, И. А. Зупанец, С.К. Шебеко, Р. В. Деркач // Національний конгрес «Клінічна фармація: 20 років в Україні»: матеріали Національного конгресу 21-22 березня 2013 р., м. Харків, – Харків, 2013. – С. 111-112. *(Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).*

10. Зупанец И. А. Анализ эффективности комбинированных хондропротекторов при остеоартрозе / И. А. Зупанец, С. М. Зимин // Роль та місце медицини у забезпеченні здоров'я людини у сучасному суспільстві : матеріали міжнарод. наук.-практ. конф. 1-2 лютого 2013 р., м. Одеса. – Одеса, 2013. – С. 90-92. *(Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).*

11. Зупанец И. А. Изучение эффективности оригинального комбинированного хондропротектора на фоне системного стероидного артроза у крыс / И. А. Зупанец, С. М. Зимин // Ключові питання наукових досліджень у сфері медицини у XXI ст.: матеріали міжнарод. наук.-практ. конф. 24-25 січня 2014 р., м. Одеса. – Одеса, 2014. – С. 126-129. *(Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).*

12. Зимин С. М. Анализ морфоструктуры суставных тканей крыс с системным стероидным артрозом под влиянием оригинального комбинированного хондропротектора / С. М. Зимин, И. А. Зупанец // Роль та місце медицини у забезпеченні здоров'я людини у сучасному суспільстві. : матеріали міжнарод. наук.-практ. конф. 31 січня – 01 лютого 2014 р., м. Львів. – Львів, 2014. – С. 118-122.. *(Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).*

13. Зимин С. М. Экспериментальное изучение эффективности оригинального комбинированного хондропротектора на модели системного стероидного артроза у крыс / С. М. Зимин, И. А. Зупанец // XXI Российский национальный конгресс «Человек и лекарство»: тезисы докладов 7–11 апреля 2014 г., г. Москва. – Москва, 2014. – С. 249-250. *(Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).*

14. Зупанец И. А. Изучение терапевтической активности оригинального комбинированного хондропротектора / И. А. Зупанец, С. М. Зимин // Сучасна медицина: актуальні проблеми, шляхи вирішення та перспективи розвитку: матеріали міжнарод. наук.-практ. конф., м. Одеса, 29 – 30 серпня 2014 р. – Одеса, 2014. – С. 67-72. *(Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).*

15. Зупанец И. А. Изучение эффективности комбинированного хондропротектора на модели системного стероидного артроза у крыс / И. А. Зупанец, С. М. Зимин // Медична наука та практика: актуальні питання взаємодії: матеріали міжнарод. наук.-практ. конф., м. Київ, 5 – 6 вересня 2014 р. – Київ, 2014. – С. 8 - 13. *(Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).*

*здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).*

16. Зімін С. М. Вивчення антипроліферативної дії комбінованого крем-гелю з глюкозаміном та хондроїтином / С. М. Зімін // Фармація ХХІ століття: тенденції та перспективи: матеріали VIII національного з'їзду фармацевтів України, 13-16 вересня 2016 р., м. Харків – Харків, 2016. – в 2-х томах. – Том 2. – С. 159. *(Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез).*

17. Розробка ефективних засобів хондропротекторної та анальгетичної дії для топічного застосування / І. А. Зупанець, М. О. Ляпунов, С. К. Шебеко, С. М. Зімін // Інформаційний лист № 217-2016. – Укрмедпатентінформ МОЗ України. – Випуск 2 з проблеми «Клінічна фармакологія і клінічна фармація». – К., 2016. – 4 с. *(Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка інформаційного листа).*

## АНОТАЦІЯ

**Зимин С. М. Експериментальне обґрунтування застосування нового комбінованого топічного крем-гелю при захворюваннях суглобів. – На правах рукопису.**

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

Дисертаційна робота присвячена фармакологічному вивченню лікарського засобу на основі композиції хондропротекторів глюкозаміну гідрохлорид і хондроїтину сульфат.

На першому етапі роботи встановлено найбільш оптимальне співвідношення активних інгредієнтів глюкозаміну гідрохлорид (5 г/100 г) з хондроїтин сульфатом (5 г/100 г) під умовною назвою «Крем-гель «Хондролайф». Виявлено, що новий комбінований крем-гель «Хондролайф» не проявляє місцево-подразнюючої, алергізуючої та токсичної шкірно-резорбтивної дії та віднесений до VI класу токсичності (відносно нешкідливі речовини). Поглиблене вивчення протизапальної (на моделях гострого карагенінового, зимозанового, гістаміновго та серотонінового набряку лапи у щурів), антиальтеративної (на моделі стандартних скарифікованих ран у щурів) та антипроліферативної активності (на моделі «ватної гранульоми») підтвердило наявність вираженої протизапальної дії крем-гелю «Хондролайф», співвідносною з такою дією «Диклак гелю». Доведено, що анальгетична активність крем-гелю «Хондролайф» (за впливом на гостру біль в тесті «гаряча пластинка», виразність спонтанного (за допомогою «тестера інвалідності») та індукованого больового синдрому (модель Randall-Selitto) достовірно перевищує дію препарату порівняння «Хондроксид» гелю у 1,5 рази і практично не поступається ефективності «Диклак гелю». Поглиблене вивчення хондропротекторної активності досліджуваного крем-гелю (на моделі експериментального артрозу у щурів) виявило зниження вираженості патологічних процесів у суглобовому хрящі щурів, посилення біосинтетичних процесів у хондроцитах і нормалізації структури хрящового матриксу. Доведено, що композицію глюкозаміну гідрохлориду з хондроїтину

сульфатом за підсумками проведених досліджень можна класифікувати як лікарський засіб з хондропротекторними, протизапальними і аналгетичними властивостями.

*Ключові слова:* глюкозаміну гідрохлорид, хондроїтину сульфат, камфора, ментол, запалення, остеоартроз, суглобовий хрящ.

## АННОТАЦІЯ

**Зимин С. М. Экспериментальное обоснование применения нового комбинированного топического крем-геля при заболеваниях суставов. – На правах рукописи.**

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

Диссертационная работа посвящена фармакологическому изучению лекарственного средства на основе комбинации хондропротекторов глюкозамина гидрохлорида и хондроитина сульфата с камфорой и ментолом в форме крем-геля.

На первом этапе работы проводились скрининговые исследования 6 вариантов комбинации с разным содержанием хондропротекторных компонентов, в ходе которого установлено оптимальное соотношение хондропротекторных ингредиентов глюкозамина гидрохлорида (5 г/100 г) с хондроитина сульфатом (5 г/100 г), данная комбинация получила условное название крем-гель «Хондролайф». При изучении токсикологических свойств наиболее перспективного варианта комбинации случаев летальности при однократном внутривенном введении и кожном нанесении не наблюдалось при максимально возможных вводимых уровнях доз. Выявлено, что новый комбинированный крем-гель «Хондролайф» не проявляет местно-раздражающего, алергизирующего и токсического кожно-резорбтивного действия и отнесен к VI классу токсичности (относительно безвредные вещества). Изучение противовоспалительной (на моделях острого каррагенинового, зимозанового, гистаминового и сертонинового отеков лапы у крыс), антиальтеративной (на модели стандартных скарифицированных ран у крыс) и антипролиферативной активности (на модели «ватной гранулемы») подтвердило наличие выраженного противовоспалительного эффекта крем-геля «Хондролайф», сопоставимого с таким эффектом «Диклак геля». Доказано, что аналгетическая активность крем-геля «Хондролайф» (по влиянию на острую боль в тесте «горячая пластина», выраженность спонтанного (с помощью «тестера инвалидности») и индуцированного болевого синдрома (модель Randall-Selitto) достоверно превышает действие препарата сравнения геля «Хондроксид» в 1,5 раза и практически не уступает эффективности «Диклак геля». Изучение хондропротекторной активности исследуемого крем-геля (на модели системного стероидного артроза у крыс) выявило нормализацию морфологической структуры суставного хряща крыс, что привело к снижению выраженности и частоты встречаемости патологических процессов и изменений в суставном хряще крыс,

усиление биосинтетических процессов в хондроцитах, отсутствие хондроцитов в состоянии хондроптоза (в группах интактного контроля и крем-геля «Хондролайф») и нормализации ультраструктуры хрящевого матрикса (восстановление упорядоченности фибрилл коллагена и протеогликанов). Таким образом, комбинацию глюкозамина гидрохлорида с хондроитина сульфатом, камфорой и ментолом по итогам проведенных исследований можно классифицировать как лекарственное средство с хондропротекторными, противовоспалительными и анальгетическими свойствами.

*Ключевые слова:* глюкозамина гидрохлорид, хондроитина сульфат, камфора, ментол, воспаление, остеоартроз, суставной хрящ.

### ANNOTATION

**Zimin S M Experimental substantiation of application of the new topical combined cream-gel in joint desases. – As a manuscript.**

Thesis for Candidate degree in medical sciences in specialty 14.03.05 – pharmacology. – National University of Pharmacy Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2016.

The thesis is devoted to the pharmacological study of the drug based on the composition of chondroprotectors glucosamine hydrochloride and chondroitin sulfate with camphor and menthol.

At the first stage it sets the optimal ratio of active ingredients glucosamine hydrochloride (5g / 100 g), chondroitin sulfate (5 g / 100 g) under the name cream-gel «Chondrolife» was evaluated with help of experimental model of inflammation of mice paw caused by high temprature. It was revealed that the new combined cream-gel «Chondrolife» show neither locally irritating, nor allergenic and toxic skin-resorptive action and assigned to Class VI toxicity (relatively harmless substances). In further study of the anti-inflammatory (in models of acute carrageenan, zimozan, histamine and serotonin paw edema in rats), antialterative (on the model of the standard scarificated wounds in rats) and antiproliferative activity (on the model of «cotton granuloma») confirmed the presence of strong anti-inflammatory action of the cream-gel «Chondrolife», correlative with the effect of «Diclac gel». It is proved that the analgesic activity of gel cream «Chondrolife» (on the effect of acute thermal pain test «hot plate», the severity of the spontaneous (with the help of «disability tester») and induced pain (Randall-Selitto) model) significantly exceeds the effect of the comparison gel «Chondroxide» gel in 1.5 times and almost as good as the efficiency of «Diclac gel». An in-depth study of the chondroprotective activity of the test cream-gel (on the experimental model of osteoarthritis in rats) revealed a decrease in severity of pathological processes in the articular cartilage in rats, increased biosynthetic processes in chondrocytes and cartilage matrix structure normalization. It is proved that the composition of glucosamine hydrochloride, chondroitin sulfate along with camphor and menthol according to the results of the research can be classified as a drug with chondroprotective, anti-inflammatory and analgesic properties.

*Keywords:* glucosamine hydrochloride, chondroitin sulfate, camphor, menthol, inflammation, osteoarthritis, articular cartilage.