Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ’Я УКРАЇНИ

**ОТРІШКО ІННА АНАТОЛІЇВНА**

**УДК: 615.451.6:615.276:616.72:547.995.1**

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ КОМБІНАЦІЇ ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ ТА ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ**

**ПРИ ОСТЕОАРТРОЗІ**

14.03.05 – фармакологія

**Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук**

**Харків – 2005**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі клінічної фармакології з фармацевтичною
опікою Національного фармацевтичного університету, Міністерство охорони здоров’я України.

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор
**Попов Сергій Борисович*,***Національний фармацевтичний університет,
професор кафедри клінічної фармакології
з фармацевтичною опікою

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор

**Мохорт Микола Антонович,**

Інститут фармакології та токсикології АМН України,

завідувач відділу фармакології серцево-судинних засобів

доктор фармацевтичних наук, професор

**Яковлєва Лариса Василівна,**

Національний фармацевтичний університет,

завідувачка Центральної науково-дослідної лабораторії, завідувачка кафедри фармакоекономіки

**Провідна установа:** Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця

МОЗ України, кафедра фармакології з курсом клінічної
фармакології, м. Київ

Захист відбудеться « \_\_\_ » \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2005 р. о \_\_\_\_ годині на засіданні
спеціалізованої вченої ради Д.64.605.01 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. Блюхера, 4).

Автореферат розісланий « \_\_\_ » \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2005 р.

|  |  |
| --- | --- |
| Вчений секретар спеціалізованої вченої ради, д. біол. н., проф. |  Л.М. Малоштан |

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Оптимізація лікування системних захворювань сполучної тканини та суглобів є актуальною медико-соціальною проблемою в зв'язку з широким розповсюдженням даної патології, частою інвалідизацією пацієнтів і високими економічними затратами, що включають лікування як основного захворювання, так профілактику і лікування можливих ускладнень фармакотерапії (Коваленко В.Н., 2003; Цурко В.В., Хитров Н.А., 2000, Зейгарник М.А., 1999; Викторов А.П., 1999).

Нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) є засобами патогенетичної та/або симптоматичної терапії запально-деструктивних захворювань суглобів, серед яких по частоті зустрічаємості на перше місце виступає остеоартроз (ОА). Проте тривале застосування НПЗП, обумовлене хронічним перебігом остеоартрозу, призводить до прояву ряду побічних ефектів, найчастіше з боку шлунково-кишкового тракту (ШКТ) – НПЗП-гастропатії (Каратеев А.Е. и др., 1999; Насонов Е.Л. и др., 2000; Whittle B.J., 2003; Gabriel S.C., 1997). Більшість НПЗП також здатні інгібувати метаболізм суглобового хряща, що є істотним недоліком при лікуванні суглобової патології (Зупанец И.А., 1993; Brandt K. D., 2000).

Незважаючи на появу нових класів НПЗП – селективних і специфічних інгібіторів ЦОГ-2 – «класичні» представники даної групи, такі як диклофенак, ібупрофен, піроксикам, продовжують залишатися одними з найбільш затребуваних НПЗП на сучасному фармацевтичному ринку України, що обумовлено їх високою клінічною ефективністю, відносною безпекою і доступністю (Kjaersgaard-Andersen P., Jensen K., 2003; Насонова В.А., 2000; Семенив В., 1998).

Окрім запального компоненту в патогенезі остеоартрозу присутні також і деструктивні зміни в суглобі. Для фармакологічної корекції дегенеративних процесів застосовуються хондропротекторні препарати. Серед препаратів з хондропротекторними властивостями особливої уваги заслуговує глюкозаміну гідрохлорид, який є ендогенним метаболітом людського організму, входить до складу ряду сполучнотканинних структур, у тому числі і суглобового хряща (Balazs T.A., Jeanloz R.W., 1965). Глюкозамін має хондропротекторну, гастропротекторну, гепатопротекторну, кардіопротекторну, кератопротекторну та ін. види активності (Дроговоз С.М. с соавт., 1992; Зупанец И.А., 1993, 2001). Володіючи слабкою протизапальною активністю, глюкозамін не здатний ефективно пригнічувати запальний процес, який виступає на перший план патогенезу в активній фазі запально-деструктивних захворювань суглобів. Тому доцільним і патогенетично виправданим є сумісне застосування протизапального і хондропротекторного препаратів, що може дозволити поряд з посиленням протизапальної дії зменшити або зупинити процеси деструкції суглобового хряща.

## У зв'язку з вищевикладеним і з метою розширення потенційних можливостей «класичних» НПЗП актуальним представляється фармакологічне вивчення нового лікарського препарату на основі композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконана у рамках науково-дослідної програми Національного фармацевтичного університету "Фармакологічні дослідження біологічно-активних речовин і лікарських засобів синтетичного і природного походження, їх застосування в медичній практиці» (№ Державної реєстрації 0103U000478).

**Мета і завдання дослідження.** Метою даної роботи стало експериментальне обґрунтування застосування композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом для оптимізації терапії запально-деструктивних захворювань суглобів, зокрема остеоартрозу.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі
завдання:

1. Провести фармакологічний скринінг композицій на основі диклофенаку натрію і глюкозаміну гідрохлориду різних за кількісним вмістом діючих речовин та вибрати найбільш оптимальне співвідношення.

2. Вивчити антиексудативну, антиальтеративну та антипроліферативну дії відібраної на етапі скринінгових досліджень композиції.

3. Вивчити анальгетичні властивості композиції.

4. Вивчити гостру токсичність обраної композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом.

5. Дослідити вплив композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом на функціональний стан шлунково-кишкового тракту експериментальних тварин.

6. Вивчити в умовах експерименту на тваринах вплив композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом на перебіг посттравматичного остеоартрозу та “ад´ювантного” артриту.

7. Дослідити механізм потенціювання диклофенаку натрію аміноцукром глюкозаміном.

*Об’єкт дослідження*. Композиція диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом.

*Предмет дослідження.* Фармакологічна активність композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом при терапії запально-деструктивних захворювань суглобів.

*Методи дослідження*. При виконанні дисертаційної роботи були використані фармакологічні, токсикологічні, біохімічні, гістологічні, біофізичні методи дослідження та методи математичної статистики.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше експериментально обґрунтовано склад і проведено фармакологічне вивчення композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом. Показано потенціюючий вплив глюкозаміну гідрохлориду на протизапальні властивості диклофенаку натрію, що дозволяє знизити його ефективну дозу при збереженні високого рівня активності та модифікувати токсикологічні характеристики. Вперше досліджено мембранотропні властивості композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом, що підтверджує ефект потенціювання компонентів композиції.

Установлено, що застосування композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом при лікуванні експериментального остеоартрозу та “ад´ювантного” артриту характеризується вираженим сприятливим впливом на показники обміну хрящової і кісткової тканини, що виявляється в зниженні запально-деструктивних процесів у суглобах, підтверджених даними біохімічного та морфологічного дослідження. Композицію диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом за результатами проведених досліджень можна класифікувати як лікарський засіб з протизапальними та хондропротекторними властивостями.

Новизна роботи підтверджена патентами № 56750 від 15.02. 2005 р. та № 56838 А від 15.05. 2003 р. на технологію та фармакологічне вивчення досліджуваної композиції.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати дисертаційної роботи є фрагментом доклінічного вивчення композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом.

Результати роботи впроваджені в навчальний процес на кафедрах фармакології Національного фармацевтичного університету, фармакології з курсом клінічної фармакології Національного медичного університету
ім. О.О. Богомольця, пропедевтики внутрішніх хвороб № 2 Харківського державного медичного університету, а також у лікувальний процес в Інституті патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка та МСЧ № 12 ВО “Моноліт”. На підставі результатів проведених досліджень ЗАТ НВЦ “Борщагівський ХФЗ” (м. Київ) здійснює фармацевтичну розробку лікарської форми на основі композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом, на що отримано акт впровадження у виробництво.

**Особистий внесок здобувача.** Разом з науковим керівникомвизначені мета і завдання дослідження, розроблені методичні підходи, згідно з якими відібрані моделі та методи для виконання експериментальної частини дисертації. Особисто проведені: патентно-інформаційний пошук, експериментальні дослідження, статистична обробка, аналіз та систематизація отриманих результатів, сформульовані висновки дисертації. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантом наведені результати власних експериментальних досліджень, прийнята участь в аналізі та узагальненні отриманих даних, у написанні статей.

Електронно-мікроскопічні дослідження проведені на базі лабораторії морфології та експериментальної патології Інституту патології хребта і суглобів ім. проф. М.І. Ситенка АМН України. Дослідження механізму потенціювання компонентів композиції методом флуоресцентного аналізу проведені у співробітництві з відділом біофізики Інституту проблем кріобіології та кріомедицини НАН України.

**Апробація роботи.** Основні положення дисертаційної роботи викладені і обговорені на ІІ міжнародній науковій конференції “Мікроциркуляція та її вікові зміни” (м. Київ, 2002), ІV Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю “Нове в клінічній фармакології та фармакотерапії захворювань внутрішніх органів” (м. Харків, 2002); IX Конгресі СФУЛТ (Луганськ-Київ-Чикаго, 2002); Всеукраїнській науково-практичній конференції “Фармація ХХІ століття” (м. Харків, 2002); ІІІ Всеукраїнській науково-практичній конференції “Клінічна фармація в Україні” (м. Харків, 2002); підсумковій науковій конференції молодих учених Харківської медичної академії післядипломної освіти “Нові технології в медицині” (м. Харків, 2002); ІІІ Міжнародній науково-практичній конференції “Наука і соціальні проблеми суспільства: медицина, фармація, біотехнологія” (м. Харків, 2003); V Всеукраїнській науково-практичній конференції “Клінічна фармація в Україні” (м. Харків, 2004).

**Публікації.** За матеріалами даної дисертації опубліковано 22 наукові роботи. З них – 12 статей (у тому числі 10 робіт у наукових фахових журналах), 8 тез доповідей, 2 патенти.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури (розділ 1), матеріалів та методів досліджень (розділ 2), 3-х розділів експериментальних досліджень, аналізу й узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел. Загальний об’єм дисертації складає 158 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 35 таблицями, 17 рисунками, 2 схемами. Перелік використаних джерел містить 244 найменування, з них 112 – іноземні.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріали та методи дослідження.** Об’єктами скринінгових досліджень були диклофенак натрію, глюкозаміну гідрохлорид та композиції різні за кількісним вмістом діючих речовин на їх основі. Технологія таблетованої лікарської форми на основі композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом розроблена на кафедрі заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора П.Д. Пашнєва.

Фармакологічні дослідження таблеток проведені на мишах та щурах, які були вирощені у розпліднику ЦНДЛ НФаУ та утримувались на стандартному раціоні у відповідності з санітарно-гігієнічними нормами (Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними, 2002).

У якості об’єктів порівняння були обрані активні компоненти композиції – власне диклофенак натрію та глюкозаміну гідрохлорид.

Основні етапи досліджень представлені на схемі. На першому етапі роботи були проведені скринінгові дослідження протизапальних властивостей композицій диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом на моделі карагенінового набряку стопи у мишей для встановлення

**Скринінг антиексудативної активності різних**

**по вмісту діючих речовин композицій диклофенаку натрію**

**з глюкозаміну гідрохлоридом**

**I етап**

### Фармакологічне вивчення відібраної на етапі

### скринінгових досліджень композиції диклофенаку натрію

### з глюкозаміну гідрохлоридом

* антиексудативна дія (карагенінове запалення)
* антиальтеративна дія (стандартні скарифіковані рани)
* антипроліферативна дія («ватна» гранульома)
* анальгезуюча активність (оцтовокислі корчі, електричне подразнення кінцівок мишей)
* вивчення гострої токсичності (експрес-метод Т.В. Пастушенко)
* вплив композиції на функціональний стан ШКТ щурів (метод
Н.І. Андрєєвої та С.Д. Шарової)

**II етап**

### Експериментальна терапія посттравматичного остеоартрозу

**і “ад´ювантного” артриту композицією диклофенаку натрію**

**з глюкозаміну гідрохлоридом**

**III етап**

Гістологічне дослідження

суглобової тканини

експериментальних тварин

Біохімічне дослідження

показників сироватки

крові тварин

Вивчення механізму потенціювання диклофенаку натрію глюкозаміну гідрохлоридом методом

флуоресцентних зондів

**IV етап**

Схема. Етапи та основні методи фармакологічних досліджень

найбільш оптимального співвідношення діючих речовин. З метою з’ясування можливого механізму антиексудативної дії композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом досліджено її вплив на асептичне запалення, індуковане різними флогогенними агентами – 1 % розчином карагеніну, 0,25 % розчином гістаміну, 0,5 % розчином серотоніну та 1×10-6 г/мл PG E2 (“Доклінічні дослідження лікарських засобів” (методичні рекомендації), 2002).

Антиальтеративні властивості композиції досліджували на моделі стан-дартних скарифікованих ран у щурів, оцінюючи показники швидкості загоєння ран та активності зменшення площі ран (“Доклінічні дослідження лікарських засобів” (методичні рекомендації), 2002). Антипроліферативну дію композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом вивчали на моделі “ватної” гранульоми у щурів (“Доклінічні дослідження лікарських засобів” (методичні рекомендації), 2002). Для вивчення периферичного компоненту анальгетичної дії досліджуваної композиції була обрана модель оцтовокислих корчів у мишей (Brune K., Laanz K., 1984). Центральний компонент механізму анальгетичної дії композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом досліджували на моделі електричного подразнення кінцівок мишей (“Доклінічні дослідження лікарських засобів” (методичні рекомендації), 2002). Дослідження гострої токсичності композиції проводили на двох видах тварин (миші, щури) по експрес-методу Пастушенко Т.В. зі співавт., 1985. Вплив досліджуваної композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом на стан слизової оболонки шлунка щурів оцінювали за методом Андрєєвої Н.І. та Шарової С.Д., 1978.

Експеримент з вивчення впливу досліджуваної композиції на метаболізм суглобового хряща був проведений на білих безпородних щурах на моделі посттравматичного остеоартрозу тазостегнового суглобу (методичні рекомендації по експериментальному дослідженню та клінічному вивченню протиартрозних (хондромодулюючих) лікарських засобів, 1999). Протизапальну та хондропротекторну активність композиції на даній модельній патології оцінювали за результатами біохімічних показників в динаміці лікування на 3, 7, 15 та 30 добу, гістоморфологічними дослідженнями та дослідженнями ультраструктурної організації клітин матриксу суглобового хряща.

У сироватці крові тварин визначали вміст хондроітинсульфатів (Лапса Ю.Ю., Слуцкий Л.И., 1975); глікопротеїдів по реакції з триптофаном, сіалових кислот по методу J. Hess, досліджували активність лужної фосфатази та проводили постановку тимолової проби (Камышников В.С., 2003); фракційний склад ГАГ-сульфатів (Штерн М.Р. и др., 1982). При проведенні світлової мікроскопії оцінювали товщину, рельєф поверхні, цитоархітектоніку суглобового хряща. Вивчення орієнтаційної упорядкованості основних макромолекул матриксу суглобового хряща проводили в поляризаційному світлі за допомогою мікроскопу «Polmy-A» шляхом кількісної оцінки величини рефракції (подвійної променезаломлюваності).

Поглиблене вивчення антипроліферативних властивостей композиції проведено також на моделі “ад´ювантного” артриту у щурів (“Доклінічні дослідження лікарських засобів” (методичні рекомендації), 2002). В крові експериментальних тварин досліджували кількість хондроітинсульфату, глікопротеїдів, загального білка, активність лактатдегідрогенази, кислої, лужної фосфатази (Камышников В.С., 2003) та її кісткового ізоферменту (Власов Б.Я., Войтович Т.Г., 1979). У тканинах вражених суглобів визначали вміст колагенових та неколагенових білків (Слуцкий Л.И., 1969).

Для з'ясування механізму потенціювання диклофенаку натрію глюкозаміну гідрохлоридом була вивчена спорідненість досліджуваного об’єкту до модельних мембран ліпосом. Взаємодію композиції диклофенаку натрію та глюкозаміну гідрохлориду з мембранами ліпосом оцінювали за змінами флуоресцентного зонду 1,8-АНС, що знаходився в ліпідах мембранного бішару ліпосом.

Статистичну обробку одержаних результатів здійснювали за допомогою стандартних статистичних комп’ютерних програм для медико-біологічних досліджень (Лапач С.Н. та ін., 2000).

**Результати досліджень та їх обговорення.** На етапі скринінгових досліджень встановлено найбільш оптимальне співвідношення діючих компонентів композиції – диклофенаку натрію та глюкозаміну гідрохлориду, яке склало 1:8 в загальній дозі 36 мг/кг. Проведеними дослідженнями показано, що сумісне застосування диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом призводить до потенціювання фармакологічного ефекту, що проявляється в зниженні DE50 композиції, розрахованої за диклофенаком натрію до 4,04 мг/кг (DE50 субстанції диклофенаку натрію – 7,69 мг/кг). Згідно методики Риболовлєва Ю.Р. зі співавт. (1979 р.) з урахуванням коефіцієнту видової чутливості тварин та людини проведено розрахунок вмісту діючих речовин для створення лікарської форми (таблетки): диклофенаку натрію – 15 мг, глюкозаміну гідрохлориду – 125 мг.

Результати вивчення можливого механізму антиексудативної дії підтверджують, що в реалізації протизапальної дії відомих антифлогістиків, зокрема, диклофенаку натрію, суттєва роль належить простагландиновому механізму. Вплив на гістаміновий компонент ексудативної реакції виражений значно менше, на серотоніновий – відсутній.

Глюкозаміну гідрохлорид, на відміну від стандартних НПЗП, не зменшує ступінь виразності набряку, викликаного PG E2 по відношенню до контролю, що дозволяє припустити відмінний від інших НПЗП механізм протизапальної дії, не пов’язаний з впливом на синтез простагландинів (ПГ).

На відміну від препаратів порівняння досліджувана композиція має комплексний механізм дії і впливає на простагландиновий, гістаміновий та серотоніновий компоненти запалення.

При дослідженні антиальтеративної активності установлено, що повна епітелізація в групі тварин з контрольною патологією відбувалася на 22,5±0,16 (22-23 добу). У групі тварин, що одержували досліджувану композицію, повне загоєння наступало на 7 днів раніше (р<0,05), диклофенак натрію – на 2 дні раніше (р>0,05), глюкозаміну гідрохлорид – на 5 днів раніше (р<0,05) в порівнянні з тваринами з контрольною патологією. Отже, згідно результатів досліджень, диклофенак натрію проявив найменшу антиальтеративну активність, що пов’язано з пригніченням ним синтезу колагену (Kudo C., Kori M., Matsuzaki K. et al, 2003). Більш високу репаративну активність композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом та власне глюкозаміну гідрохлориду можна пояснити тропністю аміноцукру глюкозаміну до мембран клітин, а також впливом на синтез глікозаміногліканів (ГАГ), колагену та інших білків. Екзогенний глюкозамін стимулює процеси репарації, потенціюючи синтез ендогенних ГАГ. Глюкозамін також має здатність індукувати утворення факторів, що підсилюють процеси регенерації: лімфокінів, кейлонів і факторів, що стимулюють сполучну тканину (Яковлева Л.В., Зупанец И.А. и др., 1988).

Дані досліджень антипроліферативної активності на моделі “ватної” гранульоми показали, що досліджувані об’єкти мають незначну антипроліферативну активність, яка підтверджувалась недостовірними показниками пригнічення утворення грануляційної тканини у порівнянні зі щурами з контрольною патологією. Так, антипроліферативна активність композиції на даній моделі склала 21,51 %, активність диклофенаку натрію – 9,22 %, активність глюкозаміну гідрохлориду – 15,13 %. Механізм протизапальної дії глюкозаміну гідрохлориду, імовірно, не пов’язаний з пригніченням синтезу колагену, а в значній мірі залежить від його резорбції, оскільки він позитивно впливає на процес ранозагоєння та має високі показники антиальтеративної активності (Яковлева Л.В., Зупанец И.А. и др., 1988).

Результати досліджень по вивченню периферичного компонента анальгетичної дії свідчать, що за анальгетичною активністю досліджувана композиція не поступається диклофенаку натрію: DE50 композиції, розрахована за диклофенаком натрію, склала 4,3 мг/кг; DE50 диклофенаку натрію – 5 мг/кг. DE50 композиції за центральною дією склала 30,24 мг/кг (DE50 композиції, розрахована за диклофенаком натрію – 3,36 мг/кг).

**Дослідження токсичності композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом.** Обов’язковою характеристикою лікарського препарату є його нешкідливість, що обумовило необхідність вивчення гострої токсичності досліджуваного препарату з визначенням його DL50 і ступеня токсичності. За результатами вивчення гострої токсичності за методом Пастушенко Т.В. зі співавт. (1985 р.) встановлено, що сумісне застосування диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом сприяє модифікації токсикологічних параметрів даного НПЗП, введеного сумісно з аміноцукром та розширенню широти терапевтичної дії (табл. 1). Згідно класифікації, наведеної у роботі Сидорова К.К. (1973 р.), композиція диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом при однократному пероральному введенні мишам і щурам (DL50 для мишей – 3850 (3120÷ 4570) , для щурів 3300 (2720÷3870)) відноситься до групи “малотоксичних речовин” (501 мг/кг < DL50 > 5000 мг/кг).

Таблиця 1

Широта терапевтичної дії композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну
гідрохлоридом

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № п/п | Препарат | DL50 ,мг/кг | DЕ50 за протизапальною дією,мг/кг | ТІза протизапальноюдією | DЕ50 за анальгетичною дією (центральний / периферичний компонент),мг/кг | ТІза анальгетичною дією |
| 1. | Композиціядиклофенакунатрію зглюкозамінугідрохлоридом | 3850(3120÷4570) | 36,00 (4,04)\*\* | 106,94 | 30,24 (3,36)\*\*/39,1 (4,3)\*\* | 127,31/98,47 |
| 2. | Диклофенакнатрію | 370(306÷434) | 8,00 | 46,25 | 3,90/5,0 | 94,87/74 |
| 3. | Глюкозаміну гідрохлорид | > 10000 | 50,0 \*\*\* | > 200 | - | - |

Примітки:

1. ТІ – терапевтичний індекс;

2. \*\* – DЕ50 композиції, розрахована за диклофенаком натрію;

3. \*\*\* – DЕ20.

 Зважаючи на те, що механізм дії диклофенаку натрію пов’язаний з пригніченням синтезу простагландинів, представляло значний інтерес в експерименті вивчити вплив композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом на слизову оболонку шлунка щурів та його секреторну функцію. Установлено, що досліджувана композиція в дозі DE50 достовірно знижує кількість виразок та крапкових геморагій в слизовій оболонці шлунку тварин в порівнянні зі щурами групи інтактного контролю. При дослідженні секреторної функції шлунка встановлено, що композиція диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом суттєво не впливає на показники об’єму шлункового соку та показники загальної кислотності в порівнянні з інтактним контролем.

 Експериментальна терапія посттравматичного остеоартрозу композицією диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом. Як показують результати біохімічних досліджень (рис. 1) композиція диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом проявляє виражену хондропротекторну та протизапальну дії. Так, по завершенню лікування даною композицією у тварин не зареєстровано достовірних відмінностей в порівнянні з інтактними тваринами за вмістом фракцій і суми ГАГ, що ілюструє високу хондропротекторну активність композиції. Причому результати лікування даної дослідної групи вірогідно відрізняються від показників тварин з контрольною патологією та тварин, яким вводили препарати порівняння.

Ум. од.

Гіалуронати і
хондроітин-6-сульфат

Хондроітин-4-сульфат

Високо-
сульфатовані ГАГ

Сума ГАГ

\*

\*/\*\*/\*\*\*

\*\*\*

\*\*

\*

\*/\*\*\*

\*/\*\*/\*\*\*

\*\*

\*/\*\*\*

\*\*

\*/\*\*\*

\*

\*/\*\*\*

\*

\*\*\*

\*\*

\*\*/\*\*\*

\*

Хондроітинсульфати

Сіалові кислоти

Активність лужної фосфатази

г/л

ммоль/л

нмоль/л

\*\*/\*\*\*

\*\*/\*\*\*

\*\*/\*\*\*

\*\*/\*\*\*

\*\*\*

\*\*

\*\*

\*\*

глюкозамін

диклофенак

контрольна патологія

інтактний контроль

композиція

**Рис. 1. Вплив композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом
на біохімічні показники крові щурів**

**Примітки:**

1. \* – відхилення показника достовірне стосовно інтактного контролю;

2. \*\* – відхилення показника достовірне стосовно контрольної патології;

3. \*\*\* – відхилення показника достовірне стосовно композиції.

Про протизапальну активність композиції судили по таким показникам як вміст сіалових кислот, активність лужної фосфатази і вміст глікопротеїдів у сироватці крові. На кінець експерименту дані біохімічних показників тварин на фоні лікування досліджуваною композицією були на рівні показників інтактних щурів.

Результати вивчення макромолекулярної організації матриксу суглобового хряща та орієнтаційного упорядкування макромолекул свідчать, що лікувальне застосування композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом сприяє синтезу та активації упорядкування ГАГ та колагену, стимуляції репаративних процесів в суглобовому хрящі (табл. 2, 3). Все це підтверджено високими показниками рефракції, котрі вказують на стимулюючий вплив досліджуваного об’єкту на синтез ГАГ та колагену, які відіграють головну роль в реалізації процесів репарації.

Таблиця 2

Рефракція ГАГ (нм) на різних ділянках суглобового хряща щурів під впливом композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом

|  |  |
| --- | --- |
| Умовидосліду | Ділянки суглобового хряща |
| Зонадефекту | Хрящ безклітин | Хрящ зі збереженоюцитоархітектонікою |
| Контрольнапатологія | 20,54±0,41 | 2,38±0,47 | 26,21±0,39 |
| Композиціядиклофенакунатрію зглюкозамінугідрохлоридом | 36,13±0,53р<0,001р1<0,001р2<0,001 | 4,21±0,89р<0,01р1>0,05р2>0,05 | 30,72±0,71р<0,001р1<0,001р2<0,001 |
| Диклофенакнатрію | 21,13±0,38р>0,05 | 2,42±0,42р>0,05 | 26,12±0,51р>0,05 |
| Глюкозамінугідрохлорид | 27,24±0,29р<0,001 | 3,91±0,69р<0,01 | 26,81±0,65р>0,05 |

Примітки (тут та в табл. 3):

1. р – достовірність відмінностей по відношенню до контрольних тварин;

2. р1 – достовірність відмінностей по відношенню до глюкозаміну гідрохлориду;

3. р2 – достовірність відмінностей по відношенню до диклофенаку натрію.

Таблиця 3

Рефракція колагену (нм) на різних ділянках суглобового хряща щурів під впливом композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом

|  |  |
| --- | --- |
| Умовидосліду | Ділянки суглобового хряща |
| Зонадефекту | Хрящ безклітин | Хрящ зі збереженоюцитоархітектонікою |
| Контрольнапатологія | 10,6±0,47 | 15,8±0,37 | 17,3±0,39 |
| Композиціядиклофенакунатрію зглюкозамінугідрохлоридом | 14,9±0,43р<0,001р1>0,05р2<0,001 | 23,8±0,89р<0,001р1<0,01р2<0,001 | 26,3±0,69р<0,01р1>0,05р2<0,001 |
| Диклофенакнатрію | 10,4±0,52р>0,05 | 15,8±0,31р>0,05 | 18,1±0,34р>0,05 |
| Глюкозамінугідрохлорид | 14,4±0,89р<0,001 | 20,4±0,51р<0,001 | 25,9±0,78р<0,001 |

 Гістоморфологічні дослідження суглобової тканини тварин на фоні експериментальної терапії композицією диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом підтверджують зниження запальних процесів та інтенсифікацію репаративних процесів у суглобі, що проявлялося збереженням цитоархітектоніки на значній території суглобового хряща, заповненням гіаліновим хрящем області дефекту, який характеризувався поліморфізмом клітинного складу. Досліджувана композиція відрізнялась від препаратів порівняння вигідним поєднанням хондропротекторних та протизапальних властивостей.

 Таким чином, експериментальна терапія композицією диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом характеризувалась вираженим зниженням запального і дистрофічного процесів, що підтверджувалась позитивною динамікою біохімічних показників обміну хрящової та кісткової тканини та даними гістоморфологічного дослідження.

Позитивна динаміка клінічних та біохімічних показників експериментальних тварин також одержана при лікувальному застосуванні композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом у щурів з “ад´ювантним” артритом – експериментальній моделі аналогічній ревматоїдному артриту у людини.

**Дослідження механізму потенціювання диклофенаку натрію глюкозаміну гідрохлоридом.** Для з’ясування механізму потенціювання диклофенаку аміноцукром глюкозаміном було досліджено спорідненість диклофенаку натрію в присутності глюкозаміну гідрохлориду та окремо диклофенаку натрію і глюкозаміну гідрохлориду до модельних мембран – ліпосом методом флуоресцентного аналізу (Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е., 1980). При вивченні спектрів флуоресценції зонда в присутності зростаючих концентрацій глюкозаміну відмічено незначне підвищення флуоресценції зонда в ліпосомах. Це пояснюється позитивним зарядом на аміногрупі глюкозаміну та відсутністю ліпофільного фрагменту в його молекулі, здатного утоплюватися в ліпідний біслой мембрани. У випадку вивчення флуоресценції зонда при введенні диклофенаку натрію в розчин ліпосом спостерігається незначне зниження флуоресценції в порівнянні з контрольною пробою. Очевидно, в механізмі зв’язування диклофенаку його карбоксильна група відіграє головну роль, здійснюючи іон-іонну взаємодію з холіновою голівкою фосфатидилхоліну, що не дозволяє мати на поверхні мембран достатню для відштовхування зонда кількість вільних негативних зарядів.

 **Як видно з рис. 2, пряма для диклофенаку з глюкозаміном має значно менший кут нахилу (менше значення Кд) – 3,3⋅10-4 М, ніж для чистого диклофенаку (10-3 М). Підвищення спорідненості диклофенаку натрію до модельних мембран в присутності глюкозаміну гідрохлориду в 3 рази свідчить про підвищення позитивного заряду на мембрані в присутності глюкозаміну. Імовірно, аміногрупа глюкозаміну блокує фосфатну групу фосфатидилхоліну, а негативний заряд на карбоксильній групі диклофенаку по іон-іонному механізму взаємодіє з позитивно зарядженою холіновою групою мембран ліпосом.**

 **Отримані дані підтверджують потенціюючий вплив аміноцукру глюкозаміну на фармакологічні характеристики диклофенаку натрію, який досягається шляхом зміни заряду на мембранах клітин, що й обумовлює можливий вплив на спорідненість заряджених лікарських речовин до мембран. Використання протилежно заряджених речовин, як у випадку спільного введення наших досліджуваних об'єктів, спричинює зміну параметрів фармакокінетики, що і є одним із можливих інструментів управління процесом усмоктування лікарських речовин.**

 **Вивчення мембранотропних властивостей композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом методом флуоресцентних зондів показало високу її спорідненість до ліпідів біомембран, що дозволяє припустити високу біодоступність даного препарату.**

 **-0,3 -0,2 -0,1 0 0,1 0,2 0,3 0,4 0,5 0,6 0,7 0,8 0,9 1,0 1,1 1,2 1,3 1,4 1,5 1,6 1,7 1,8 1,9**

1/C 104 (M-1)

****

**диклофенак натрію**

**диклофенак натрію + ГА**

Рис. 2. Визначення константи дисоціації (Кд) диклофенаку натрію з ліпосомами

**та в присутності глюкозаміну гідрохлориду методом зворотних координат**

**ВИСНОВКИ**

 **У дисертації теоретично та експериментально обґрунтовано доцільність комбінованого застосування диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом у терапії запально-деструктивних захворювань суглобів, зокрема остеоартрозу.**

1. На моделі карагенінового запалення експериментально встановлено композиційне співвідношення субстанцій диклофенаку натрію і глюкозаміну гідрохлориду (1:8) у загальній дозі композиції 36 мг/кг (4 мг /кг диклофенаку натрію та 32 мг /кг глюкозаміну гідрохлориду), що виявило найбільш виражений антиексудативний ефект.
2. Гостра токсичність досліджуваної композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом складає 3850 (3120–4570) мг/кг, що дозволяє віднести її до класу малотоксичних речовин по загальноприйнятій класифікації. За показниками гострої токсичності досліджувана композиція приблизно в 10 разів менш токсична, ніж субстанція диклофенаку натрію.
3. При порівняльному вивченні глюкозаміну гідрохлориду, диклофенаку натрію і композиції на основі глюкозаміну гідрохлориду та диклофенаку натрію встановлено потенціювання фармакологічного ефекту в композиції.
4. Застосування диклофенаку натрію в композиції з глюкозаміну гідрохлоридом сприяє суттєвому зниженню гастротоксичності досліджуваного НПЗП.
5. На моделях експериментальної патології – “ад´ювантному” артриті та посттравматичному остеоартрозі у щурів установлена висока терапевтична ефективність досліджуваної композиції, що полягає у вираженому протизапальному і хондропротекторному ефектах.
6. Механізм хондропротекторної дії композиції здійснюється за рахунок стимуляції синтезу глікозаміногліканів і колагену на ушкоджених ділянках суглобового хряща; імовірно, під впливом глюкозаміну гідрохлориду значимо знижується хондротоксичність диклофенаку натрію.

**7. На моделі флуоресцентних зондів установлено, що застосування диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом сприяє підвищенню мембрано-тропності диклофенаку натрію, що є експериментальним підтвердженням механізму потенціювання фармакологічної дії компонентів композиції.**

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ:**

1. Зупанець І.А., Попов С.Б., Отрішко І.А. Експериментальне вивчення протизапальної активності композиції глюкозаміну гідрохлориду та диклофенаку натрію на моделі карагенінового набряку // Клінічна фармація. – 2002. – Т. 6, № 2. – С. 48 – 50. (Особистий внесок здобувача: проведені експериментальні дослідження, участь в аналізі й узагальненні отриманих даних, підготовка статті).
2. Зупанець І.А., Бездітко Н.В., Отрішко І.А. Порівняльне вивчення впливу глюкозаміну гідрохлориду, індометацину і диклофенаку на ексудативне запалення, викликане різними флогогенними агентами // Вісник Вінницького медичного університету. – 2002. – № 2. – С. 397 – 400. (Особистий внесок здобувача: проведені експериментальні дослідження, участь в аналізі й узагальненні отриманих даних, підготовка статті).
3. Зупанец И.А., Бездетко Н.В., Дедух Н.В., Отришко И.А. Экспериментальное изучение влияния глюкозамина гидрохлорида на метаболические и репаративные процессы в соединительнотканных структурах // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2002. – Т. 65, № 6. – С. 67 – 69. (Особистий внесок здобувача: участь в проведенні експериментальних досліджень, аналізі й узагальненні отриманих даних, підготовка статті).
4. Зупанець І.А., Попов С.Б., Отрішко І.А., Пашнєв П.Д., Січкар А.А. Вплив композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом на ексудативне і проліферативне запалення // Фізіологічно активні речовини. – 2002. – № 2 (34). –
С. 112 – 115. (Особистий внесок здобувача:проведені експериментальні дослідження, участь в аналізі й узагальненні отриманих даних, підготовка статті).
5. Зупанець І.А., Попов С.Б., Отрішко І.А. Експериментальна оцінка репаративної активності композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом при моделюванні стандартних скарифікованих ран у щурів // Медична хімія. – 2003.– Т. 5, № 1. – С. 32 – 35. (Особистий внесок здобувача: проведені експериментальні дослідження, участь в аналізі й узагальненні отриманих даних, підготовка статті).
6. Отрішко І.А. Дослідження токсичних та аналгетичних властивостей композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом // Медична хімія. – 2003. – Т. 5, № 2. – С. 16 – 20.
7. Зупанець І.А., Попов С.Б., Отрішко І.А. Фармакологічні механізми хондропротекторної дії композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом в умовах моделювання експериментального посттравматичного артрозу // Клінічна фармація. – 2003. – Т. 7, № 4. – С. 24 – 27. (Особистий внесок здобувача: проведені експериментальні дослідження, участь в аналізі й узагальненні отриманих даних, підготовка статті).
8. Січкар А.А., Пашнєв П.Д., Зупанець І.А., Отрішко І.А., Сайко І.В., Ковальов В.М. Розробка комбінованого лікарського препарату у вигляді таблеток на основі глюкозаміну гідрохлориду та диклофенаку натрію // Фармаком. – 2003. – № 4. – С. 68 – 72. (Особистий внесок здобувача: проведені експериментальні дослідження, участь в аналізі й узагальненні отриманих даних, підготовка статті).
9. Зупанець І.А., Попов С.Б., Отрішко І.А. Динаміка біохімічних показників при лікуванні експериментального гонартрозу композицією диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом // Вісник фармації. – 2004. – № 2 (38). – С. 59 – 64. (Особистий внесок здобувача: проведені експериментальні дослідження, участь в аналізі й узагальненні отриманих даних, підготовка статті).
10. Зупанець І.А., Попов С.Б., Отрішко І.А. Фармакологічна активність нового лікарського засобу на основі композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом та перспективи його застосування в терапії ревматоїдного артриту // Запорожский медицинский журнал. – 2004. – Т. 2, № 1. – С. 51-53. (Особистий внесок здобувача: проведені експериментальні дослідження, участь в аналізі й узагальненні отриманих даних, підготовка статті).
11. Зупанець І.А., Попов С.Б., Шебеко С.К., Отрішко І.А. Вивчення механізму потенціювання диклофенаку натрію аміноцукром глюкозаміном методом флуоресцентних зондів // Медична хімія. – 2004. – Т. 6, № 2. – С. 43 – 47. (Особистий внесок здобувача: проведені експериментальні дослідження, участь в аналізі й узагальненні отриманих даних, підготовка статті).
12. Зупанець І.А., Попов С.Б., Шебеко С.К., Отрішко І.А., Андрєєва О.О. Динаміка вмісту ендогенного N-ацетилглюкозаміну при запально-деструктивних процесах різної етіології та під впливом експериментальної терапії // Клінічна фармація. – 2004. – Т. 8, № 4. – С. 34 – 37. (Особистий внесок здобувача: проведені експериментальні дослідження, участь в аналізі й узагальненні отриманих даних, підготовка статті).
13. Патент на винахід 56750, Україна, МПК А 61 К 9/00, А 61 К 31/00. Фармацевтична композиція з протизапальною, анальгетичною та хондропротекторною дією / Зупанець І.А., Черних В.П., Пашнєв П.Д., Попов С.Б., Коваленко В.М., Січкар А.А., Отрішко І.А.; ТОВ ІНПКФЦ “Сінергія”; Заявл. 30.08. 2002; Опубл. 15.02. 2005; Бюл. № 2. – С. 4.36. – 4.37.
14. Деклараційний патент на винахід 56838 А, Україна, МПК А 61 К 9/20, А 61 К 9/48, А 61 К 31/70, А 61 К 31/195. Фармацевтична композиція з хондропротекторною, протизапальною та анальгетичною дією / Зупанець І.А., Черних В.П., Пашнєв П.Д., Попов С.Б., Коваленко В.М., Січкар А.А., Отрішко; ТОВ ІНПКФЦ “Сінергія”; Заявл. 27.09. 2002; Опубл. 15.05. 2003; Бюл. № 5. – С. 4.37.

15. Зупанець І.А., Попов С.Б., Отрішко І.А. Роль та шляхи корекції порушень транскапілярного обміну при остеоартрозі // Мікроциркуляція та її вікові зміни: Матеріали ІІ міжнародної наукової конференції. – К., 2002. – С. 125 – 126.

16. Попов С.Б., Отрішко І.А. Комбінація аміноцукру глюкозаміну та нестероїдних протизапальних препаратів – новий підхід в створенні лікарських засобів хондромодулюючої дії // Нове у клінічній фармакології та фармакотерапії захворювань внутрішніх органів: Мат. ІV Всеукраїнської науково-практичної. – Х., 2002. – С. 223.

17. Отрішко І.А. Фармакодинамічні особливості комбінації глюкозаміну гідрохлориду та диклофенаку натрію при експериментальному гонартрозі // IX Конгрес СФУЛТ: Тези доп. – Луганськ – Київ – Чикаго, 2002. – 448 – 449.

1. Зупанець І.А., Попов С.Б., Пашнєв П.Д., Отрішко І.А., Січкар А.А. Порівняльні аспекти терапевтичних та токсикологічних характеристик диклофенаку натрію та його композиції з аміноцукром глюкозаміном // Фармація ХХІ століття: Тези доп. Всеукраїнської науково-практичної конференції . – Х., 2002. – С. 151.
2. Черних В.П., Попов С.Б., Отрішко І.А. Альтернативні підходи до фармацевтичної опіки при застосуванні диклофенаку натрію для лікування суглобової патології // Тези ІІІ Всеукраїнської науково-практичної конференції “Клінічна фармація в Україні”. – Клінічна фармація. – 2002. – Т. 6, № 3. – С. 70.
3. Отрішко І.А. Експериментальні паралелі фармакологічної активності композицій диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом та
N-ацетилглюкозаміном // Нові технології в медицині: Матеріали підсумкової наукової конференції молодих учених Харківської медичної академії післядипломної освіти. – Х., 2002. – С. 43.
4. Попов С.Б., Отрішко І.А. Структурно-метаболічні порушення при експериментальному артрозі та їх фармакологічна корекція // Наука і соціальні проблеми суспільства: медицина, фармація, біотехнологія: Тези доп. ІІІ Міжнародної науково-практичної конференції. – Х., 2003. – С. 171.
5. Зупанець І.А., Попов С.Б., Отрішко І.А., Безугла Н.П. Морфологічна оцінка результатів експериментальної терапії посттравматичного артрозу щурів композицією диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом // Матеріали V Всеукраїнської науково-практичної конференції “Клінічна фармація в Україні”. – Харків, 2004. – С. 91.

**Отрішко І.А.** Експериментальне обгрунтування застосування комбінації глюкозаміну гідрохлориду та диклофенаку натрію при остеоартрозі. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет, Харків, 2005.

Дисертація присвячена фармакологічному вивченню лікарської форми на основі композиції глюкозаміну гідрохлориду та диклофенаку натрію.

Встановлено, що досліджувана композиція проявляє протизапальну, анальгетичну та хондропротекторну дію. Безумовною перевагою комбінованого застосування є зниження ефективної дози композиції, розрахованої за диклофенаком натрію до 4,04 мг/кг та модифікація її токсикологічних характеристик (за показниками гострої токсичності досліджувана композиція приблизно в 10 разів менш токсична, ніж субстанція диклофенаку натрію).

При вивченні впливу композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом на біохімічні та гістоморфологічні показники експериментальних тварин з посттравматичним остеоартрозом встановлена її висока фармакологічна активність, а саме протизапальна та хондропротекторна дії. Протизапальна активність композиції реалізується в основному за рахунок потенційованої дії диклофенаку натрію, хондропротекторна – за рахунок глюкозаміну гідрохлориду.

Вивчено механізм потенціювання диклофенаку натрію аміноцукром глюкозаміном методом флуоресцентних зондів, в результаті якого установлена більш висока спорідненість до мембран диклофенаку натрію у присутності аміноцукру глюкозаміну.

*Ключові слова:* комбінація диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом, запалення, посттравматичний остеоартроз, “ад´ювантний” артрит, суглобовий хрящ, потенціююча дія.

**Отришко И.А.** Экспериментальное обоснование применения комбинации глюкозамина гидрохлорида и диклофенака натрия при остеоартрозе. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2005.

Диссертация содержит результаты экспериментального исследования композиции диклофенака натрия с глюкозамина гидрохлоридом.

В результате проведенных исследований установлено наиболее оптимальное соотношение диклофенака натрия с глюкозамина гидрохлоридом, составившее 1:8 в общей дозе 36 мг/кг. Сочетанное применение диклофенака натрия с аминосахаром глюкозамином позволяет снизить DE50 композиции, рассчитанной по диклофенаку натрия до 4,04 мг/кг, а также модифицировать его токсикологические характеристики и влияние на метаболизм суставного хряща.

На основании полученных экспериментальных результатов произведен перерасчет доз с учетом коэффициента видовой чувствительности по Рыболовлеву Ю.Р. (1979). Предложено таблетированную лекарственную форму со следующим содержанием действующих веществ: диклофенака натрия – 15 мг, глюкозамина гидрохлорида – 125 мг.

Далее было проведено изучение влияния композиции диклофенака натрия с глюкозамина гидрохлоридом на различные фазы воспаления. Антиальтеративная активность композиции, изученная на модели стандартных скарифицированных ран у крыс, была выше у исследуемой композиции, чем у объектов сравнения, что подтверждалось более ранними сроками полной эпителизации. Данные исследований антипролиферативной активности на модели «ватной» гранулемы показали, что исследуемые объекты имеют незначительную антипролиферативную активность, что подтверждалось недостоверными показателями угнетения образования грануляционной ткани по сравнению с животными с контрольной патологией. Антипролифиративная активность активность композиции диклофенака натрия с глюкозамина гидрохлоридом составила 21,51 %, активность диклофенака натрия – 9,22 %, активность глюкозамина гидрохлорида – 15,13 %.

Установлено также, что исследуемая композиция обладает анальгетической активностью и оказывает влияние на центральный и периферический механизмы формирования боли.

 Композиция диклофенака натрия с глюкозамина гидрохлоридом не оказывает ульцерогенного действия в условнотерапевтической дозе.

 В результате изучения влияния композиции диклофенака натрия с глюкозамина гидрохлоридом на течение посттравматического остеоартроза установлено, что исследуемая композиция обладает противовоспалительной и хондропротекторной активностью, подтвержденной в эксперименте данными биохимических и гистологических исследований. В реализации противовоспалительного действия композиции главная роль принадлежит диклофенаку натрия, а хондропротекторного действия – глюкозамина гидрохлориду.

 Обобщая полученные данные о макромолекулярной организации матрикса суставного хряща и ориентационную упорядоченность ГАГ и коллагена, можно утверждать, что лечебное применение композиции диклофенака натрия с глюкозамина гидрохлоридом способствует активации синтеза ГАГ и коллагена, стимуляции репаративных процессов в суставном хряще.

 **Изучение мембранотропных свойств композиции методом флуоресцентных зондов на модели искусственных мембран липосом показало, что совместное применение диклофенака натрия с аминосахаром глюкозамином значительно повышает его сродство к липосомам (КД композиции – 3,3⋅10-4 М, КД диклофенака – 10-3 М). Увеличение сродства диклофенака натрия к модельным мембранам в присутствии глюкозамина гидрохлорида в 3 раза свидетельствует об увеличении положительного заряда на мембране в присутствии глюкозамина. По-видимому, аминогруппа глюкозамина блокирует фосфатную группу фосфатидилхолина, а отрицательный заряд на карбоксильной группе диклофенака по ион-ионному механизму взаимодействует с положительно заряженной холиновой группой мембран липосом. Полученные экспериментальные данные подтверждают потенцирующее влияние аминосахара глюкозамина на фармакологические характеристики диклофенака натрия, которое достигается путем изменения заряда на мембранах клеток, обуславливая возможность влиять на сродство заряженных лекарственных веществ к мембранам.**

 На основании проведенных исследований таблетки на основе композиции диклофенака натрия с глюкозамина гидрохлоридом могут быть классифицированы как средство с выраженной противовоспалительной, хондропротекторной активностями и рекомендовано для проведения дальнейшего изучения с целью применения в терапии остеоартроза.

*Ключевые слова:* комбинация диклофенака натрия с глюкозамина гидрохлоридом, воспаление, деформирующий остеоартроз, «адъювантный» артрит, суставной хрящ, потенцируюющее действие.

**Otrishko I.A. «The experimental foundation of the appication of the combination of glucosamine hydrochloridum and sodium diclofenac in osteoarthrosis». – Manuscript.**

The thesis for a scientific degree of the candidate of pharmaceutical sciences in speciality 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy, Kharkiv, 2005.

The dissertation is initiated to pharmacological research of the medicinal form on the basis of the combination of glucosamine hydrochloridum and sodium diclofenac.

It was fixed, that the researched composition had shown the anti-inflammatory, analgesic and chondroprotective activity. The unconditional advantage of the combined application is the decreasing of the effective dose of composition, counted by sodium diclofenac up to 4, 04 mg/kg and modification of its toxicological characteristics (according to the dates of acute toxicity the researched composition is less toxical approximately in 10 times in comparison with the sodium diclofenac).

During studying the influence of the composition of glucosamine hydrochloridum and sodium diclofenac on biochemical and hystomorphological indexes of experimental animals with posttraumatic osteoarthrosis its have been fixed it high pharmacological activity, namely anti-inflammatory and chondroprotective activity. Anti-inflammatory activity of the composition is realizing basically for the account of potentive activity of sodium diclofenac, chondroprotective activity is due to glucosamine hydrochloridum.

It have been investigated the potentiative mechanism of sodium diclofenac by aminosugar glucosamine with the method of fluorescence analysis, therefore have been fixed the higher affinity to membranes of sodium diclofenac at the presence of the aminosugar glucosamine.

*Key words*: the combination of glucosamine hydrochloridum and sodium diclofenac, inflammation, posttraumatic osteoarthrosis, “aduvantive” arthritis, joint cartilage, potentive activity.

**Підписано до друку 15.09.2005 р.**

 Формат 60x90 1/16. Ум. друк. арк. 0,9

Обл.-вид. арк. 0,8. Тираж 100. Зам. № 047

Надруковано ПП “Арзамаєв В.Р.”

61144, м. Харків-144, вул. Героїв Праці, 17, к. 284

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>