

*На правах рукописи*

МАТЮШКИН АЛЕКСАНДР ИВАНОВИЧ

**ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ И ПРОТИВОБОЛЕВОЙ  
АКТИВНОСТИ ГИМАНТАНА В ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ ДЛЯ  
НАРУЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ**

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва – 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении  
«Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова» (ФГБНУ  
«НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»)

**Научный руководитель:**

кандидат фармацевтических наук

**Иванова Елена Анатольевна**

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук,  
ведущий научный сотрудник  
лаборатории экспериментальной  
и клинической фармакологии ФГБУН  
ГНЦ РФ - Института медико-  
биологических проблем РАН

**Яснецов Виктор Владимирович**

кандидат биологических наук,  
ведущий научный сотрудник  
лаборатории фундаментальных  
и прикладных проблем боли  
ФГБНУ «НИИ общей патологии  
и патофизиологии»

**Кузнецова Лада Владимировна**

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего  
образования «Белгородский государственный национальный исследовательский  
университет»

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 года в \_\_\_ часов на заседании  
диссертационного совета Д 001.024.01, созданного на базе ФГБНУ «НИИ фармакологии  
имени В.В. Закусова» по адресу: 125315, Москва, Балтийская ул., д. 8

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ученой части ФГБНУ «НИИ  
фармакологии имени В.В. Закусова» по адресу: 125315, г. Москва, ул. Балтийская, д.8 и на  
сайте [www.academpharm.ru](http://www.academpharm.ru).

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 года.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор медицинских наук,  
профессор

**Вальдман Елена Артуровна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Распространенность болезней костно-мышечной системы (БКМС) и соединительной ткани неуклонно растёт: в РФ с 2006 по 2017 годы она увеличилась на 35%. Ведущее место среди БКМС занимает остеоартроз (ОА), его распространенность за указанный временной период возросла на 24,3% (Общая заболеваемость в РФ за 2017. Статистические данные МЗРФ, 2017; Вакуленко О.Ю.; Ревматология. 2016; 22; С. 1494-1498). ОА является одной из основных причин стойкой потери трудоспособности; рост заболеваемости ОА связан с увеличением продолжительности жизни населения и распространённостью обусловленных образом жизни факторов риска, основным из которых является ожирение (Vina E.R.; Curr Opin Rheumatol. 2018; 2(30); P. 160-167). По данным ВОЗ более 40% людей пожилого возраста страдают ОА, и около 80% пациентов с ОА имеют ограничения подвижности разной степени (Cañizares M. Arthritis and Rheumatism. 2008; 3(59); P. 399-407)

Фармакотерапия ОА симптоматическая, препаратами первой линии являются ацетаминофен (парацетамол) и нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) (Osteoarthritis: Care and Management in Adults: National Institute for Health and Clinical Excellence: Guidance. London; 2014.). Высокий риск развития серьезных побочных эффектов (желудочно-кишечные осложнения, нарушение агрегации тромбоцитов, функции почек, печени и др.) при системном применении этих препаратов определяет актуальность поиска других подходов к фармакотерапии ОА (Каратеев А.Е.; Научн практ ревматол. 2018; 56; С.1-29). Одним из них является использование противовоспалительных и противоболевых средств в лекарственных формах для наружного применения, которое сопровождается меньшим риском развития побочных эффектов по сравнению с препаратами системного действия вследствие значительного уменьшения концентрации действующих веществ в крови. Включение в комплексную терапию ОА и других БКМС местных противовоспалительных и противоболевых препаратов позволяет снизить дозы и кратность приема лекарственных средств системного действия, что обеспечивает большую безопасность и комплаентность фармакотерапии (Altman R.D.; Drugs. 2011; 10(71); P. 1259-1279, Derry S. The Cochrane Database of Systematic Reviews. 2016; 4(2016)).

**Степень разработанности проблемы.** НПВП в лекарственных формах для наружного применения впервые были включены в клинические рекомендации по лечению БКМС в 2000-е гг: разрешение FDA, США, получено в 2007 г.; рекомендация NICE, Великобритания, вышла в 2008 г. (Derry S. The Cochrane Database of Systematic Reviews. 2016; 4(2016)). Накожное нанесение НПВП в лекарственных формах для наружного

применения обеспечивает создание эффективных концентраций действующих веществ в тканях-мишенях, за счёт чего развиваются их фармакологические эффекты (Haroutiunian S.; Pain Medicine. 2010; 4(11); P. 535-549).

Хорошая проницаемость через клеточные мембраны в ткани характерна для соединений, имеющих в своей структуре фрагменты обладающих высокой липофильностью каркасных углеводов, в частности, адамантана (Haroutiunian S.; Pain Medicine. 2010; 4(11); P. 535-549). К производным аминоадамантана относятся соединения с анальгетическим, нейропротекторным и противопаркинсоническим действием (Battilocchio C.; ACS medicinal chemistry letters. 2013; 4; P. 704-709; Kornhuber J. Eur J Pharmacol. 1991; 4(206); P. 297-300; Wanka L. Chem Rev. 2013; 5(113); P. 3516-3604). Производное 2-аминоадамантана гимантан (N-(2-адамантил)-гексаметиленмина гидрохлорид) – разработанное в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» противопаркинсоническое средство (Вальдман Е.А., дисс. ... д-ра мед. наук: 14.00.25, 2001; Середенин С.Б. и соавт. Патент РФ №1825499, 2014). У гимантана была обнаружена выраженная противовоспалительная и противоболевая активность при отсутствии ulcerогенного побочного эффекта (Вальдман Е.А. и соавт.; Патент РФ №2559777, 2012). Фармакодинамические и физико-химические свойства гимантана позволяют рассматривать его перспективным соединением для создания на его основе противовоспалительного и противоболевого средства в лекарственной форме для наружного применения.

**Цель исследования** – экспериментальная оценка противовоспалительного и противоболевого действия гимантана в лекарственной форме – гель для наружного применения.

**Задачи исследования:**

1. Изучить обезболивающее и противовоспалительное действие гелей-прототипов (содержат только действующее вещество – гимантан и гелеобразователь – гидроксипропилметилцеллюлозу, ГПМЦ) для создания гелевой лекарственной формы гимантана для наружного применения с целью выбора оптимальной концентрации действующего вещества.
2. Оценить обезболивающее и противовоспалительное действие 5% гелевых лекарственных форм гимантана для наружного применения, различающихся составом вспомогательных веществ, в формалиновом тесте и на модели каррагенанового отёка лапы у крыс и выбрать наиболее эффективную 5% гелевую лекарственную форму гимантана для наружного применения.

3. Изучить антиэкссудативное и антиоксидантное действие выбранной 5% гелевой лекарственной формы гимантана для наружного применения в сравнении с 1% гелем диклофенака, диклофенаком и гимантаном при внутрибрюшинном (в/б) введении на модели каррагенанового отёка лапы у крыс.
4. Изучить противовоспалительное действие выбранной 5% гелевой лекарственной формы гимантана для наружного применения в сравнении с 1% гелем диклофенака, диклофенаком и гимантаном при в/б введении на модели вызванного конканавалином А (Кон А) отека лапы у мышей.
5. Изучить противовоспалительную активность выбранной 5% гелевой лекарственной формы гимантана для наружного применения в сравнении с 1% гелем диклофенака, диклофенаком и гимантаном при в/б введении на модели адьювантного артрита (АА), вызванного инъекцией полного адьюванта Фрейнда (ПАФ) в заднюю лапу крыс, при ежедневном применении препаратов в течение 14 дней, начиная за сутки до индукции воспаления.
6. Изучить противовоспалительную активность выбранной 5% гелевой лекарственной формы гимантана для наружного применения в сравнении с 1% гелем диклофенака, диклофенаком и гимантаном при в/б введении на модели АА, вызванного инъекцией ПАФ в заднюю лапу крыс, при ежедневном применении препаратов в течение 14 дней, начиная с 14 дня после индукции воспаления.
7. Изучить анальгетическую активность выбранной 5% гелевой лекарственной формы гимантана для наружного применения в сравнении с 1% гелем диклофенака, диклофенаком и гимантаном при в/б введении на моделях термической гипералгезии при остром экссудативном воспалении и послеоперационной гипералгезии у крыс.

**Научная новизна.** Впервые проведено комплексное изучение противовоспалительного и противоболевого действия адамантансодержащего соединения гимантана в гелевой лекарственной форме для наружного применения. Среди изученных гелевых лекарственных форм гимантана для наружного применения отобрана наиболее эффективная 5% гелевая лекарственная форма, содержащая в качестве вспомогательных веществ диметилсульфоксид (ДМСО), ГПМЦ, нипагин, нипазол, воду очищенную.

На моделях воспаления и боли доказано, что спектр действия отобранной лекарственной формы для наружного применения при накожном нанесении в области повреждений тканей шире, чем при в/б введении гимантана в субстанции в дозах 10-20 мг/кг и диклофенака в дозах 5-10 мг/кг, а также диклофенака в виде 1% гелевой лекарственной формы для наружного применения. На модели формалиновой боли установлено, что 5% гель гимантана при однократном применении проявляет

анальгетическую активность в острую фазу, обусловленную воздействием формалина на первичные афференты боли, а гимантан и диклофенак при в/б введении в изученных дозах и 1% гель диклофенака таким эффектом не обладают. На модели каррагенанового отёка показано, что 5% гель гимантана снижает повышенный уровень продуктов свободно-радикального окисления (СРО) липидов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК), в мягких тканях лап крыс значимо эффективнее, чем гимантан при в/б введении и диклофенак при в/б введении и в виде 1% гелевой лекарственной формы для наружного применения.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Полученные в ходе исследования данные о противовоспалительной и противоболевой эффективности гимантана в гелевой лекарственной форме для наружного применения свидетельствуют о перспективе создания препаратов в лекарственных формах для наружного применения на основе соединений, являющихся производными адамантана и обладающих противовоспалительным и противоболевым действием.

Выявленная противовоспалительная и противоболевая активность гимантана в 5% гелевой лекарственной форме для наружного применения обосновывает целесообразность дальнейшего доклинического изучения этой лекарственной формы гимантана в качестве потенциального лекарственного средства для терапии воспалительных заболеваний опорно-двигательного аппарата. На гелевую лекарственную форму гимантана для наружного применения получен патент РФ №2663452.

**Методология и методы диссертационного исследования.** Исследование выполнено в три этапа. На первом из них осуществляли выбор наиболее эффективной гелевой лекарственной формы гимантана для наружного применения в формалиновом тесте и на модели каррагенанового отёка у крыс. На следующих двух этапах изучали противовоспалительную и противоболевую активность отобранной гелевой лекарственной формы гимантана для наружного применения в сравнении с эталонным НПВП диклофенаком в гелевой лекарственной форме для наружного применения, гимантаном и диклофенаком при в/б введении.

В исследовании использовали методы оценки противовоспалительной и противоболевой активности веществ в соответствии с рекомендациями «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Часть.1. М.: Гриф и К, 2012) и применяемые за рубежом методы (Brennan T.J.; Pain. 1996; 3(64); P. 493-501).

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Лекарственная форма для наружного применения – 5% гель гимантана, содержащая в качестве вспомогательных веществ ДМСО, ГПМЦ, нипагин, нипазол, воду

очищенную, обладает наибольшей анальгетической и противовоспалительной активностью в формалиновом тесте и на модели каррагенанового отека у крыс по сравнению с гелевыми лекарственными формами с другим количеством действующего вещества и составом вспомогательных веществ.

2. На модели каррагенанового отека у крыс гимантан в 5% гелевой лекарственной форме для наружного применения при однократном применении проявляет антиэкссудативный эффект и снижает повышенный уровень продуктов СРО липидов, реагирующих с ТБК, в гомогенатах мягких тканей лап животных с каррагенановым отеком.

3. Гимантан в 5% гелевой лекарственной форме для наружного применения при курсовом десятидневном наружном применении проявляет противовоспалительную активность на модели отека стопы у мышей, вызванного Кон А.

4. На модели АА у крыс гимантан в 5% гелевой лекарственной форме для наружного применения уменьшает отечность задних конечностей при 14-ти дневном курсовом применении с началом как за сутки до введения адьюванта, так и на 14 день после индукции воспаления. У крыс с вторичной иммунологической реакцией гимантан в 5% гелевой лекарственной форме для наружного применения также снижает выраженность воспалительной гипералгезии, уровень сегментоядерных нейтрофилов и нормализует координацию движений. При обеих схемах применения 5% геля гимантана побочных эффектов не зафиксировано.

5. Гимантан в 5% гелевой лекарственной форме для наружного применения при однократном применении оказывает анальгетическое действие в тесте термической гипералгезии у крыс с каррагенановым отеком лапы, при ежедневном курсовом (дважды в сутки) применении на модели послеоперационной гипералгезии у крыс снижает механическую гипералгезию.

**Степень достоверности.** Работа выполнена с использованием соответствующих поставленным задачам адекватных методов исследования; при проведении экспериментов был получен достаточный объем данных; статистическую обработку полученных данных проводили согласно общепринятым методам математической статистики.

**Апробация работы.** Основные положения диссертационной работы были представлены на программе «УМНИК» в рамках молодежного научно-инновационного конкурса «Московский молодежный старт» (Москва, 2017); V Съезде фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств» (Ярославль, 2018); Всероссийской научной конференции молодых ученых, посвященной 95-летию со дня рождения профессора А.А. Никулина, «Достижения современной фармакологической

науки» (Рязань, 2018); программе «УМНИК – РАН» (Москва, 2018); Международной научно-практической конференции «Молодые ученые в медицине и биологии» (Сочи, 2019); 55<sup>th</sup> Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2019) (Хельсинки, Финляндия, 2019).

**Личный вклад.** Автором самостоятельно выполнен поиск и анализ источников литературы, проведены эксперименты, обработка и интерпретация данных, при активном участии автора сформулированы положения, выносимые на защиту, и выводы, подготовлены публикации по результатам диссертационного исследования.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ, включая 6 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, из них 4 статьи в журналах, входящих в международные базы данных Scopus и Web of Science; 1 патент РФ; 1 статья и 5 тезисов в материалах научных конференций и съездов.

**Объем и структура работы.** Диссертация изложена на 147 страницах компьютерного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов исследования, главы обсуждения результатов исследования и выводов. Содержит 33 таблицы и 11 рисунков. Список литературы включает 51 отечественный и 306 зарубежных источников.

## **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ**

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**Экспериментальные животные.** Исследования выполнены на самцах белых аутбредных крыс (n=478, масса крыс 240-315 г), самцах крыс линии Вистар (n=53, масса крыс 270-300 г) и самцах аутбредных мышей (n=57, масса мышей 23-29 г). Животных получали из питомника лабораторных животных филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России и содержали в соответствии с СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 29 августа 2014 г. N 51. Эксперименты проводили во временном интервале с 9.00 до 16.00. Организацию и проведение работы осуществляли в соответствии с международными и российскими нормативно-правовыми документами: Приказом Минздрава РФ №199н от 1 апреля 2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

**Препараты и вещества, используемые в экспериментах.** Препараты исследования: гимантан (синтезирован под руководством вед.науч.сотр., канд.хим.н. Авдюниной Н.И. и предоставлен для исследований химико-технологической лабораторией ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»), гелевые лекарственные формы гимантана для наружного применения, гели-прототипы гимантана (содержат действующее вещество и гелеобразователь) и гели-плацебо, созданные под руководством проф., д.фарм.н. Алексеева К.В. в лаборатории готовых лекарственных форм ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»: 1% гель-прототип гимантана (состав: гимантан – 0,5 г, ГПМЦ – 1,00 г, вода очищенная до 50,00 г), 5% гель-прототип гимантана (состав: гимантан – 2,5 г, ГПМЦ – 1,00 г, вода очищенная до 50,00 г), 5% гель гимантана серий 070916/100317 (состав: гимантан – 2,5 г, ГПМЦ – 1,00 г, нипагин – 0,075 г, нипазол – 0,025 г, вода очищенная до 50,00 г), 5% гель гимантана серии 080916 (состав: гимантан – 2,5 г, ГПМЦ – 1,00 г, нипагин – 0,075 г, нипазол – 0,025 г, ДМСО – 4,00 г, вода очищенная до 50,00 г), 5% гель гимантана серии 090916 (состав: гимантан – 2,5 г, полоксамер Р407 – 8,50 г, нипагин – 0,075 г, нипазол – 0,025 г, вода очищенная до 50,00 г), 5% гель гимантана серий 130317/150118/190219 (состав: гимантан – 2,5 г, ГПМЦ – 1,00 г, нипагин – 0,075 г, нипазол – 0,025 г, ДМСО – 5,00 г, вода очищенная до 50,00 г), гель-плацебо серии 141017 (состав: ГПМЦ – 1,00 г, нипагин – 0,075 г, нипазол – 0,025 г, ДМСО – 5,00 г, вода очищенная до 50,00 г), гель-плацебо серии 110317 (состав: ГПМЦ – 1,00 г, нипагин – 0,075 г, нипазол – 0,025 г, вода очищенная до 50,00 г). Препараты сравнения: диклофенак в растворе (р-ре) для инъекций и в 1% геле (Немофарм, Сербия). Вещества для моделирования патологических состояний: каррагенан (Sigma-Aldrich, США), ПАФ (Sigma-Aldrich, США), Кон А (Sigma-Aldrich, США), формалин (БиоВитрум, Россия).

**Методы исследования.** Исследование активности гимантана в лекарственных формах для наружного применения осуществляли согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Часть.1. М.: Гриф и К, 2012). **Формалиновый тест** проводили на крысах: после субплантарного введения 2% р-ра формалина в заднюю лапу животных оценивали болевую чувствительность в острую и тоническую фазы формалиновой боли и отек поврежденной лапы. **Каррагенановый отек** моделировали на крысах, регистрируя выраженность отека через 1, 2, 3 и 4 часа после субплантарного введения 1% р-ра каррагенана в заднюю лапу с последующим количественным определением продуктов СРО липидов, реагирующих с ТБК, в гомогенате мягких тканей лап и сыворотке крови животных<sup>1</sup>. **Модель отека задней лапы у мышей, вызванного Кон А:** на фоне 10-дневного применения средств фиксировали

---

<sup>1</sup> Эксперимент проводили совместно с гл.н.с., профессором Золотовым Н.Н.

массу задних лап мышей, в одну из которых вводили р-р Кон А (100 мкг/20 г массы тела), в другую – физиологический р-р (физ. р-р), и рассчитывали индекс реакции (Ир) по формуле:  $I_p = (P_{оп} - P_k) * 100\% / P_k$ , где  $P_{оп}$  – масса стопы задней лапы, в которую вводили Кон А,  $P_k$  – масса стопы задней лапы, в которую вводили физ. р-р. **Модель АА у крыс, вызванного введением ПАФ.** Исследование включало два опыта: в первом оценивали влияние средств при их ежедневном применении в течение 14 дней, начиная за сутки до индукции воспаления, на отёк левой задней лапы, в которую вводили ПАФ, массу тела, массовые коэффициенты органов иммунной системы тимуса и селезёнки и гибель крыс (Рисунок 1); во втором опыте изучали влияние средств при их ежедневном применении в течение 14 дней, начиная с 14 суток после индукции воспаления, на патологический процесс у крыс с вторичной иммунологической реакцией на инъекцию ПАФ в левую заднюю лапу, проявлявшейся отёком правой задней лапы, с регистрацией отёка, температуры кожи, болевой чувствительности задних лап, функции суставов в тесте «Вращающийся стержень» (RotaRod, Ugo Basile, Италия), массы тела, гематологических показателей (Abacus Junior VET, Diatron, Австрия), включая лейкоцитарную формулу<sup>2</sup> (МЕКОС-Ц1, Россия), и гибели крыс (Рисунок 2).

*Рисунок 1. Схема опыта по оценке влияния геля гимантана на вызванное ПАФ воспаление у крыс при применении в течение 14 дней, начиная за сутки до индукции воспаления.*



**Модель термической гипералгезии при остром экссудативном воспалении у крыс:** влияние средств на болевую чувствительность в ответ на термическое раздражение регистрировали спустя 3 часа после субплантарного введения раствора каррагенана в подошвенном тесте на установке Plantar Test (Hargreave's Method, Ugo Basile, Италия). **Модель послеоперационной боли у крыс:** боль моделировали путем хирургической манипуляции – последовательных продольных разрезов кожи стопы и короткого сгибателя пальцев левой задней лапы с наложением горизонтальных матрацных швов на завершающем этапе; в течение 4 дней после операции регистрировали механическую (с помощью нитей фон Фрея, Ugo Basile, Италия) и термическую (в подошвенном тесте)

<sup>2</sup> Эксперимент проводили совместно с сотрудниками лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» – ст.н.с. Алексеевой С.В. и инж. 1-й кат. Качаловым К.С.

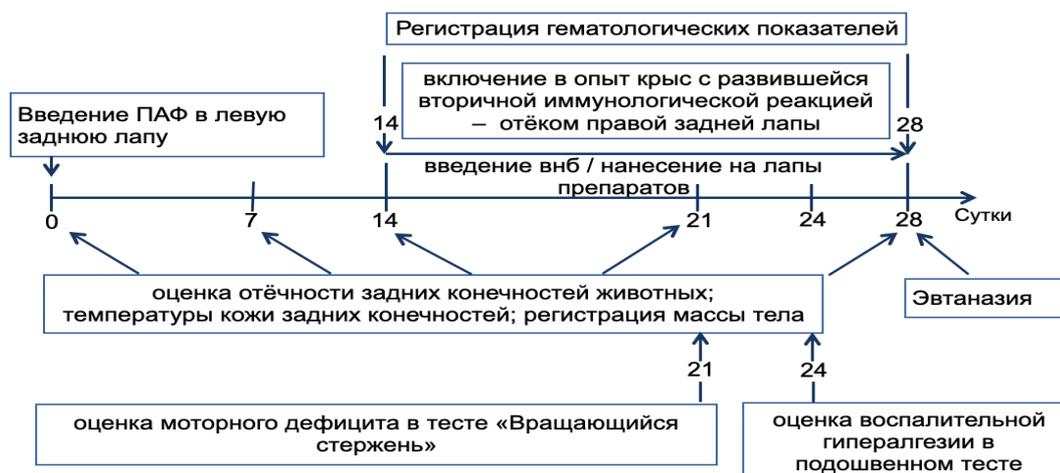


Рисунок 2. Схема опыта по оценке влияния геля гимантана на вызванное ПАФ воспаление у крыс при применении в течение 14 дней, начиная с 14 суток после индукции воспаления

чувствительность обеих задних лап (Brennan T.J.; Pain. 1996; 64(3); P. 493-501) и массу тела животных. **Статистическую обработку** результатов опытов проводили с помощью языка программирования R версии 3.5.1. Нормальность распределения данных проверяли критерием Шапиро-Уилка с последующей оценкой межгруппового равенства дисперсий критерием Бартлетта. При статистической обработке использовали дисперсионный анализ (ANOVA), критерии Даннета, Ньюмена-Кейлса, Манна-Уитни, парный критерий Вилкоксона. Результаты представлены в зависимости от применения параметрического или непараметрического анализа: при применении параметрической статистики – как среднее  $\pm$  ошибка среднего (стандартное отклонение); непараметрической – как медиана (1; 3 квартиль). Межгрупповые различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1 Выбор оптимальной по составу гелевой лекарственной формы гимантана для наружного применения

#### 3.1.1 Выбор концентрации гимантана в гелевой лекарственной форме для наружного применения на основании результатов экспериментальной оценки противоболевой и противовоспалительной активности гелей-прототипов в формалиновом тесте у крыс

Установлено, что 5% гель-прототип гимантана оказывал противоболевое действие как в острую (0-5 минуты после введения формалина), вызванную воздействием формалина на первичные афференты боли, так и в отставленную по времени тоническую (20-60 минуты после введения формалина), обусловленную развитием воспаления, фазы формалиновой боли (таблица 1). Кроме того, 5% гель-прототип гимантана на 33,3% снижал развившийся в ответ на инъекцию р-ра формалина отёк лапы крыс, по выраженности эффекта не уступая 1% гелю диклофенака (таблица 1). 1% гель-прототип

Таблица 1. Противоболевое и противовоспалительное действие 1% и 5% гелей-прототипов гимантана и 1% геля диклофенака в формалиновом тесте у крыс, Me (Q1; Q3)

Группа, количество животных в группе	Формалиновая боль, суммарный балл <sup>#</sup> в:		Формалиновый отёк: увеличение диаметра лапы, мм
	острую фазу	тоническую фазу	
Контроль, гель-плацебо, n=9	5,0 (4,0; 5,0)	18,0 (17,0; 19,0)	1,2 (0,8; 2,2)
Диклофенак, 1% гель, n=9	4,0 (4,0; 5,0)	14,0 (9,0; 15,0)*	0,8 (0,6; 1,1)*
Гимантан, 1% гель-прототип, n=11	5,0 (4,0; 5,0)	17,0 (14,0; 18,0)	1,0 (0,7; 1,3)
Гимантан, 5% гель-прототип, n=12	3,5 (3,0; 4,0)*	13,0 (12,0; 14,5)*	0,8 (0,6; 0,9)*

Примечание: \* -  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Контроль, гель-плацебо», критерий Манна-Уитни;  
<sup>#</sup> - каждые 5 минут в обе фазы боли регистрировали 4 типа поведенческих реакций: 0 - отсутствие реакции; 1 - лапа остается на земле, но животное на нее не опирается; 2 - лапа поднята; 3 - лапа облизывается, грызется или встряхивается; подсчитывали сумму баллов в острую и тоническую фазы боли.  
Здесь и далее n – количество животных в группе

гимантана не оказывал анальгетического и противовоспалительного действия. Поэтому 5% концентрация гимантана была выбрана для создания лекарственной формы для наружного применения на его основе.

### *3.1.2 Выбор наиболее эффективной 5% гелевой лекарственной формы гимантана для наружного применения среди 5% гелевых лекарственных форм гимантана для наружного применения, различающихся составом вспомогательных веществ*

При сравнении противоболевой и противовоспалительной активности 5% гелевых лекарственных форм гимантана для наружного применения серий 070916, 080916 и 090916 в формалиновом тесте у крыс установлено, что только 5% гель гимантана серии 080916 оказывал анальгетическое действие в острую фазу формалиновой боли, снижая её суммарный балл на 15,8%. Гели гимантана серий 080916 и 090916 значительно уменьшали суммарный балл тонической фазы боли соответственно на 25% и 30% по сравнению с контрольной группой. Гель гимантана серии 070916 не оказывал значимого влияния на суммарный балл тонической фазы боли. 5% гели гимантана серий 070916 и 080916, но не 090916, значительно снижали формалиновый отек: соответственно на 53% и 44,3% по сравнению с контрольной группой (таблица 2).

На модели каррагенанового отёка лапы у крыс 5% гель гимантана серии 080916 значительно снижал отёк лапы через 2 часа после введения р-ра каррагенана на 29,2% и через 4 часа – на 50% сравнению с контрольной группой. Его эффект значительно не отличался от эффекта препарата сравнения геля диклофенака, который уменьшал отек лапы на 33,3%, 31,6% и 40,9% соответственно через 2, 3 и 4 часа после введения флогогена по сравнению с контрольной группой. 5% гель гимантана серии 070916 снижал отёк только через 4 часа после индукции воспаления на 18,2% по сравнению с контрольной группой (таблица 3).

Таблица 2. Противоболевое и противовоспалительное действие 5% гелей гимантана серий 070916, 080916 и 090916 в формалиновом тесте у крыс, Ме (Q1; Q3)

Группа, количество животных в группе	Формалиновая боль, суммарный балл в:		Формалиновый отёк: увеличение диаметра лапы, мм
	острую фазу	тоническую фазу	
Контроль, гель-плацебо, n=10	4,8 (4,0; 5,0)	20,0 (17,0; 21,0)	1,85 (1,18; 2,55)
Гимантан, 5% гель, серия 070916, n=11	5,0 (4,0; 5,0)	16,0 (15,5; 18,0)#	0,79 (0,5; 1,24)*
Гимантан, 5% гель, серия 080916, n=11	4,0 (3,0; 4,0)*	15,0 (14,0; 17,0)*	0,75 (0,55; 1,4)*
Гимантан, 5% гель, серия 090916, n=8	5,0 (3,8; 5,5)	14,0 (12,0; 17,0)*	1,29 (1,09; 1,55)

Примечание: \* -  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Контроль, гель-плацебо», критерий Манна-Уитни

Таблица 3 – Влияние 5% гелей гимантана серий 070916 и 080916 в сравнении с 1% гелем диклофенака при нанесении на заднюю лапу на каррагенановый отёк у крыс, Ме (Q1; Q3)

Группа, количество животных в группе	Увеличение диаметра поврежденной лапы, мм, на фоне введения каррагенана через:			
	1 час	2 часа	3 часа	4 часа
Контроль, гель-плацебо, n=8	1,7 (1,2; 2,0)	2,4 (1,9; 3,0)	1,9 (1,6; 2,5)	2,2 (1,8; 2,3)
Диклофенак, 1% гель, n=10	1,4 (1,2; 1,8)	1,6 (1,2; 1,9)*	1,3 (1,0; 1,4)*	1,3 (1,2; 1,8)*
Гимантан, 5% гель, серия 070916, n=11	2,0 (1,5; 2,5)	2,4 (2,0; 2,7)	2,0 (1,90; 2,4)	1,8 (1,3; 1,9)*
Гимантан, 5% гель, серия 080916, n=11	1,2 (0,9; 1,3)	1,7 (1,5; 2,0)*	1,7 (1,1; 1,9)	1,1 (1,0; 1,5)*

Примечания: \* -  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Контроль, гель-плацебо», критерий Манна-Уитни

Таким образом, среди изученных гелевых лекарственных форм гимантана для наружного применения наиболее эффективной является 5% лекарственная форма гимантана серии 080916, содержащая в качестве активатора всасывания ДМСО.

### 3.1.3 Оценка влияния ДМСО на выраженность противоболевой и противовоспалительной активности 5% гелевой лекарственной формы гимантана для наружного применения в формалиновом тесте у крыс

В формалиновом тесте у крыс линии Вистар 5% гели гимантана 130317 и 100317 оказывали противоболевое действие в тоническую фазу формалиновой боли, снижая её суммарный балл соответственно на 11,6% и 12,6%, не уступая эффекту 1% геля диклофенака, который уменьшал суммарный балл тонической фазы боли на 12,6% по сравнению с контрольной группой. Только 5% гель гимантана серии 130317 с ДМСО в своём составе снижал боль в острую фазу на 20% ( $p < 0,1$ ). 5% гель гимантана серии 130317, как и 1% гель диклофенака, уменьшал выраженность формалинового отёка на 33,3% по сравнению с контрольной группой. Гели-плацебо серий 141017 и 110317, соответствующие 5% гелям гимантана серий 130317 и 100317, анальгетического и противовоспалительного действия не оказывали (таблица 4).

Таблица 4. Противоболевое и противовоспалительное действие 5% гелей гимантана серий 130317 и 100317 и соответствующих им гелей-плацебо серий 141017 и 110317 в сравнении с 1% гелем диклофенака в формалиновом тесте у крыс, Ме (Q1; Q3)

Группа, количество животных в группе	Формалиновая боль, суммарный балл:		Формалиновый отёк: увеличение диаметра лапы, мм
	в острую фазу	в тоническую фазу	
Контроль, n=10	5,0 (4,0; 5,0)	19,8 (18,0; 22,3)	1,5 (1,3; 1,6)
Гель-плацебо, серия 110317, n=9	5,0 (4,1; 6,0)	18,5 (18,0; 22,0)	1,3 (1,2; 2,0)
Гель гимантана, серия 100317, n=10	5,0 (3,6; 5,0)	17,3 (15,3; 19,5)*	1,2 (0,9; 1,3)
Гель-плацебо серия 141017, n=8	5,0 (4,3; 5,0)	18,5 (18,0; 21,5)	1,5 (1,4; 1,5)
Гель гимантана, серия 130317, n=8	4,0 (3,9; 5,0)#	17,5 (14,9; 19,3)*	1,0 (0,6; 1,4)#
1% гель диклофенака, n=8	5,0 (5,0; 5,0)	17,3 (15,3; 19,5)*	1,0 (0,9; 1,0)*
Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем, критерий Манна-Уитни; # - $p = 0,058$ по сравнению с контролем, критерий Манна-Уитни			

Таким образом, в результате первого этапа работы по оценке противоболевого и противовоспалительного действия лекарственных форм гимантана для наружного применения в качестве наиболее перспективной для дальнейших исследований выбрана 5% лекарственная форма гимантана для наружного применения, содержащая на 50,0 г: гимантана – 2,50 г, ГПМЦ – 1,00 г, нипагина – 0,075 г, нипазола – 0,025 г, ДМСО – 5,00 г, воды очищенной до 50,00 г (серии 130317, 150118, 190219).

### 3.2 Оценка противовоспалительной активности 5% гелевой лекарственной формы гимантана для наружного применения на моделях острого и хронического воспаления у грызунов

Второй этап работы посвящен оценке противовоспалительной активности выбранной 5% гелевой лекарственной формы гимантана для наружного применения в сравнении с 1% гелем диклофенака при наружном применении, гимантаном и диклофенаком при в/б введении на моделях индуцированного Кон А отёка у мышей, каррагенанового отёка и вызванного ПАФ артрита у крыс.

#### 3.2.1 Влияние 5% гелевой лекарственной формы гимантана для наружного применения на отёк лап и уровень продуктов СРО липидов, реагирующих с ТБК, в гомогенатах мягких тканей лап крыс с каррагенановым отёком

5% гель гимантана при нанесении на заднюю лапу крыс за час до инъекции р-ра каррагенана проявлял антиэкссудативный эффект, снижая отек лапы на 29%, 52% и 29% соответственно через 2, 3 и 4 часа после индукции воспаления по сравнению с контрольной группой. Эффект 5% геля гимантана значимо не отличался от эффекта геля

диклофенака, уменьшавшего отек задней лапы крыс на 36%, 53% и 41% соответственно через 2, 3 и 4 часа после введения флогогена. Гимантан в дозе 20 мг/кг (в/б) и диклофенак в дозе 10 мг/кг (в/б) снижали отек соответственно на 26% и 31% через 3 часа после введения флогогена. Через 5 часов после инъекции р-ра каррагенана в гомогенате мягких тканей лап крыс контрольной группы зарегистрирован повышенный в 4,4 раза уровень продуктов СРО липидов, реагирующих с ТБК, по сравнению с интактными крысами. Гель гимантана снижал повышенный уровень продуктов СРО липидов, реагирующих с ТБК, на 62%, превосходя по этой способности гель диклофенака и гимантан в дозе 20 мг/кг, уменьшавших концентрацию изучаемых продуктов СРО липидов на 17%. Диклофенак в дозе 10 мг/кг на их уровень влияния не оказывал (таблица 5).

Местный антиоксидантный эффект гелей гимантана и диклофенака не сопровождался изменением уровня продуктов СРО липидов, реагирующих с ТБК, в сыворотке крови крыс с каррагенановым отёком лапы.

Таблица 5. Влияние гимантана и диклофенака в виде гелей и при в/б введении на отёк лапы и концентрацию продуктов СРО липидов, реагирующих с ТБК, в гомогенате мягких тканей лап крыс с каррагенановым отёком, Ме (Q1; Q3)

Группа, количество животных в группе	Увеличение диаметра левой задней лапы крыс (мм) после введения каррагенана через:				Концентрация продуктов СРО липидов, реагирующих с ТБК, мкмоль/л
	1 час	2 часа	3 часа	4 часа	
Интактные животные, n=11	0,0 (-0,2; 0,1)*	0,0 (0,0;0,1)*	0,0 (-0,1; 0,0)*	0,1 (0,0; 0,1)*	0,03 (0,02; 0,05)*
Контроль, каррагенан, n=11	0,9 (0,5;1,1)	1,4 (1,15; 1,7)	1,9 (1,7; 2,4)	1,7 (1,2; 2,2)	0,13 (0,13; 0,14)#
Каррагенан + Гимантан 20 мг/кг, n=9	0,8 (0,3; 1,0)	1,3 (1,1; 1,6)	1,4 (1,2; 1,5)*	1,3 (1,2; 1,8)	0,11 (0,09; 0,13)#*
Каррагенан + Гимантан 5%гель, n=9	0,6 (0,2; 1,0)	1,0 (0,6; 1,4)*	0,9 (0,9; 1,2)*	1,2 (0,6; 1,4)*	0,05 (0,02; 0,08)*
Каррагенан + Диклофенак 10 мг/кг, n=9	0,9 (0,4; 1,2)	1,2 (1,1; 1,7)	1,3 (1,2; 1,8)*	1,2 (1,1; 1,4)	0,14 (0,11; 0,15)#
Каррагенан + Диклофенак 1%гель, n=9	0,9 (0,2; 1,0)	0,9 (0,5; 1,0)*	0,9 (0,3;1,35)*	1,0 (0,7; 1,4)*	0,11 (0,08; 0,14)#*

Примечание: \* - p<0,05 по сравнению с группой «Каррагенановый отёк», критерий Манна-Уитни;  
# - p<0,05 по сравнению с группой «Интактные животные», критерий Манна-Уитни; значения показателей отёка во всех группах животных с каррагенановым отёком на всех этапах измерения значимо отличались от соответствующих значений группы «Интактные животные», критерий Манна-Уитни

### 3.2.2 Влияние 5% геля гимантана на отёк стопы мышей, вызванный Кон А

10-дневное применение гимантана и диклофенака в виде гелевых наружных лекарственных форм и их в/б введение в дозах 10 мг/кг и 5 мг/кг, соответственно, приводило к снижению вызванного Кон А отека стопы мышей. Наибольший эффект зарегистрирован при наружном применении препаратов: уменьшение отека на фоне геля

Таблица 6. Влияние гимантана и диклофенака при наружном нанесении гелевых лекарственных форм на заднюю конечность и в/б введении в течение 10 дней на отёк стопы у мышей, вызванный Кон А, Mean±SEM (SD)

Группа, количество животных в группе	Индекс реакции, %
Контроль, физ. р-р в/б (10 дней) + Кон А, n=13	34,83±1,83 (6,59)
Гимантан в/б, 10 мг/кг (10 дней) + Кон А, n=12	24,56±2,05 (7,09)*
Гимантан, 5% гель (10 дней) + Кон А, n=11	18,39±2,49 (8,26)*
Диклофенак в/б, 5 мг/кг (10 дней) + Кон А, n=13	26,96±3,24 (11,67)*
Диклофенак, 1% гель (10 дней) + Кон А, n=8	17,99±2,11 (5,96)*
Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, критерий Ньюмена-Кейлса	

гимантана составило 48,4%, геля диклофенака – 47,2%. Гимантан в дозе 10 мг/кг и диклофенак в дозе 5 мг/кг снижали отек на 29,5% и 22,6%, соответственно (таблица 6).

### 3.2.3 Влияние 5% гелевой лекарственной формы гимантана для наружного применения на вызванное ПАФ воспаление у крыс

#### 3.2.3.1 Влияние 5% геля гимантана на вызванное ПАФ воспаление (АА) у крыс при ежедневном применении в течение 14 дней, начиная за сутки до индукции воспаления

У крыс с АА, вызванным инъекцией ПАФ в левую заднюю лапу, 5% гель гимантана снижал её отёк в области плюсны на 3 и 6 сутки после индукции воспаления соответственно на 50% и 20,8% и в области скакательного сустава во все дни регистрации на 50-71,4% по сравнению с активным контролем – группой крыс с АА, не получавших экспериментальной терапии. Гимантан в дозе 10 мг/кг уменьшал отек плюсны на 12,5% на 6 сутки и скакательного сустава – на 50% и 62,5% соответственно на 3 и 6 сутки после введения ПАФ. Диклофенак в дозе 5 мг/кг снижал отек плюсны на 40% на 3 сутки и скакательного сустава – на 31,8% и 52,4% соответственно на 3 и 9 сутки после введения ПАФ. Уменьшение отёка левой задней лапы крыс на фоне 1% геля диклофенака не достигало уровня значимости  $p < 0,05$  ни в один из дней регистрации (таблицы 5, 6). Кроме того, на его фоне погибло 4 из 11 крыс в группе, в других группах смертности не было.

Прирост массы крыс с АА был сниженным на протяжении всего опыта. На 3 сутки после индукции воспаления масса крыс группы активного контроля была на 7 г ниже значения до введения ПАФ. На 3 сутки после введения ПАФ на фоне гимантана в дозе 10 мг/кг и диклофенака в дозе 5 мг/кг зарегистрирован прирост массы тела, равный, соответственно, 2,5 и 3,0 г, что значимо отличалось от активного контроля; в группе крыс, которым на лапы наносили 1% гель диклофенака, масса тела не изменилась относительно значения до введения ПАФ; на фоне 5% геля гимантана масса тела крыс снизилась на 4,0 г

относительно значения до введения ПАФ. На 6 и 9 сутки после введения ПАФ наименьший прирост массы тела был у животных, которым на заднюю лапу наносили 1% гель диклофенака, что обусловлено токсическим действием препарата в лекарственной форме для наружного применения: гибель 3 крыс в этой группе была отмечена именно в период с 6 по 9 сутки после введения ПАФ. На 14 сутки после введения ПАФ прирост массы тела относительно значения до введения ПАФ был максимальным в группах крыс, получавших гимантан наружно и в дозе 10 мг/кг, составляя соответственно 52 и 58,2 г, что значимо не отличалось от показателя группы пассивного контроля – крыс без модели АА (65,2 г).

Таблица 7. Изменение диаметра стопы левой задней лапы крыс с АА, Ме (Q1; Q3)

Группа, количество крыс в группе на начало экспериментальной терапии	Изменение диаметра стопы левой задней конечности крыс в плюсневой области (мм) относительно фоновых значений после введения ПАФ на:			
	3 сутки	6 сутки	9 сутки	12 сутки
Пассивный контроль, n=8	0,00 (0,00; 0,10)	0,00 (-0,05; 0,25)	0,00 (-0,10; 0,15)	0,05 (-0,05; 0,20)
Активный контроль, n=10	2,00* (1,40; 2,00)	1,20* (1,20; 1,30)	1,15* (1,00; 1,40)	1,00* (0,75; 1,50)
Гимантан 10 мг/кг, n=11	1,20* (1,00; 2,00)	1,05*# (0,90; 1,20)	1,10* (0,90; 1,30)	1,10* (0,90; 1,20)
Гимантан 5% гель, n=11	1,00*# (0,50; 1,70)	0,95*# (0,50; 1,10)	1,00* (0,50; 1,30)	0,60* (0,50; 1,50)
Диклофенак 5 мг/кг, n=11	1,20*# (1,00; 1,60)	1,10* (1,00; 1,60)	1,10* (0,60; 1,50)	1,10* (0,70; 1,20)
Диклофенак 1% гель, n=11	1,80* (1,40; 2,05)	1,00* (0,50; 1,70)	1,50* (1,00; 2,20)	2,00* (1,00; 2,50)

Примечание: \* -  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Пассивный контроль», критерий Манна-Уитни, # -  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Активный контроль», критерий Манна-Уитни

Таблица 8. Изменение диаметра левого скакательного сустава крыс с АА, Ме (Q1; Q3)

Группа, количество крыс в группе на начало экспериментальной терапии	Изменение диаметра левого скакательного сустава крыс (мм) относительно фоновых значений после введения ПАФ на:			
	3 сутки	6 сутки	9 сутки	12 сутки
Пассивный контроль, n=8	0,05 (-0,05; 0,10)	0,15 (0,10; 0,25)	0,20 (0,00; 0,35)	0,25 (0,05; 0,40)
Активный контроль, n=10	2,20* (2,00; 2,50)	2,80* (1,50; 3,00)	2,10* (1,50; 3,20)	1,80* (1,50; 2,40)
Гимантан 10 мг/кг, n=11	1,10*# (0,50; 2,00)	1,05*# (0,50; 2,50)	1,35* (1,00; 1,50)	1,25* (1,00; 1,50)
Гимантан 5% гель, n=11	1,00*# (0,50; 1,50)	1,05*# (0,40; 1,40)	0,60*# (0,40; 0,80)	0,90* (0,10; 1,50)
Диклофенак 5 мг/кг, n=11	1,50*# (1,00; 2,00)	1,90* (0,70; 3,00)	1,00*# (0,90; 1,90)	1,10* (0,60; 2,00)
Диклофенак 1% гель, n=11	1,20* (0,75; 2,30)	1,90* (1,00; 2,50)	1,75* (0,50; 2,25)*	2,00* (0,70; 2,50)

Примечание: \* -  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Пассивный контроль», критерий Манна-Уитни, # -  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Активный контроль», критерий Манна-Уитни

На 14 сутки после введения ПАФ у крыс зафиксированы инволюция тимуса (на 26,3%) и гипертрофия селезёнки (на 15,5%); на их развитие изучаемые средства не влияли.

3.2.3.2 Влияние 5% геля гимантана на вызванное ПАФ воспаление у крыс при применении в течение 14 дней, начиная с 14 дня после индукции воспаления

У крыс с вторичной иммунологической реакцией на инъекцию ПАФ спустя 7 суток экспериментальной терапии (на 21 сутки опыта) 5% гель гимантана значительно снижал отёк правой задней лапы по сравнению с группой активного контроля: плюсны – на 37,5%; скакательного сустава – на 44,4%. Эффект геля гимантана значительно не отличался от эффекта геля диклофенака, достоверно снижавшего отёк правой задней лапы крыс только в области скакательного сустава на 55,6%, и диклофенака в дозе 5 мг/кг, также уменьшавшего только отёк скакательного сустава на 33,3%. Гимантан в дозе 10 мг/кг значимого влияния на отёк правой задней лапы крыс на 21 сутки после введения ПАФ не оказывал. На 28 сутки после введения ПАФ значимое снижение отёка правых задних лап наблюдалось у крыс, которым наносили гель гимантана и вводили диклофенак в дозе 5 мг/кг, в области скакательного сустава (Таблица 9).

Таблица 9. Отёчность правой задней лапы крыс с АА, Ме (Q1; Q3)

Группа, количество крыс в группе на начало экспериментальной терапии	Изменение диаметра правой задней лапы крыс с вторичной иммунологической реакцией на введение ПАФ относительно фоновых значений (до его введения)					
	в плюсневой области (мм)			в области скакательного сустава (мм)		
	14 сутки – до использования препаратов	21 сутки	28 суток	14 сутки – до использования препаратов	21 сутки	28 суток
Пассивный контроль, n=15	0,1 (-0,2; 0,5)	0,0 (-0,3; 0,2)	0,0 (-0,2; 0,4)	0,0 (-0,2; 0,1)	0,0 (-0,1; 0,1)	0,0 (-0,2; 0,2)
Активный контроль, n=11	1,1 (0,9; 1,3)*	0,8 (0,6; 0,9)*	0,4 (0,2; 0,7)	1,1 (1,0; 1,4)*	0,9 (0,6; 1,1)*	0,4 (0,4; 0,6)*
Гимантан 10 мг/кг, n=8	1,1 (1,0; 1,33)*	0,7 (0,5; 1,1)*	0,5 (0,3; 0,6)*	1,4 (1,3; 1,5)*	0,5 (0,4; 0,6)*	0,3 (0,1; 0,5)
Гимантан 5% гель, n=8	1,5 (1,2; 1,5)*	0,5 (0,3; 0,5)*#	0,3 (0,2; 0,6)	1,3 (1,1; 1,4)*	0,5 (0,3; 0,6)*#	0,1 (-0,2; 0,2)*
Диклофенак 5 мг/кг, n=8	1,2 (1,0; 1,2)*	0,7 (0,3; 1,1)*	0,0 (-0,1; 0,5)	1,3 (1,2; 1,5)*	0,6 (0,2; 0,7)*#	-0,1 (-0,4; 0,2)*
Диклофенак 1% гель, n=10	1,1 (1,0; 1,3)*	0,3 (0,2; 0,5)*	0,2 (-0,1; 0,3)	1,2 (1,1; 1,5)*	0,4 (0,1; 0,7)*#	0,15 (0,0; 0,3)

Примечание: \* -  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Пассивный контроль», критерий Манна-Уитни, # -  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Активный контроль», критерий Манна-Уитни,

На 21 и 28 сутки после введения ПАФ у крыс с вторичной воспалительной реакцией сохранялась и первичная воспалительная реакция – отёк левой задней лапы, в которую вводили индуктор воспаления: в группе активного контроля диаметр плюсны был увеличен соответственно на 2,0 и 1,9 мм, скакательного сустава – 0,9 и 0,4 мм по сравнению с группой пассивного контроля. Гимантан и диклофенак в виде гелей для наружного применения снижали отёк левой задней лапы крыс на 21 сутки после введения ПАФ: гель гимантана полностью устранял отёк скакательного сустава, гель диклофенака уменьшал его диаметр на 44,4%.

На 21 сутки после введения ПАФ в тесте «Вращающийся стержень» зарегистрировано снижение координации движений крыс с АА, проявлявшееся уменьшением латентного периода (ЛП) падения животных с барабана установки на 31,4%. Гели гимантана и диклофенака значительно увеличивали ЛП падения крыс соответственно на 74,3% и 60,0%. Гимантан в дозе 10 мг/кг снижал моторный дефицит животных на 60,0% ( $p < 0,05$ ). Диклофенак в дозе 5 мг/кг значимого влияния на этот показатель не оказывал.

На 24 сутки после введения ПАФ у крыс группы активного контроля в подошвенном тесте зарегистрирована гипералгезия, проявившаяся значимым снижением ЛП отдергивания задних лап в ответ на подачу луча инфракрасного (ИК) света по сравнению с группой пассивного контроля (ЛП равен 12,9 с): для левой лапы – на 32,6% (до 8,7 с), правой лапы – на 24,8% (до 9,7 с). Повышение порога болевой чувствительности левой задней лапы крыс на фоне гимантана в виде геля для наружного применения составило 23,0%, при в/б введении – 55,2%; правой задней лапы – соответственно 34,0% и 27,8% ( $p < 0,05$ ). Повышение порога болевой чувствительности задних лап крыс составило на фоне 1% геля диклофенака для левой лапы – 106,7%, правой лапы – 41,2%; на фоне в/б введения диклофенака для левой лапы – 41,4%, правой лапы – 14,4% ( $p < 0,05$ ).

Хотя у крыс с АА на 7 сутки после введения ПАФ были зарегистрированы эритема и повышение температуры кожи задних конечностей, на 14, 21 и 28 сутки после введения ПАФ температура кожи задних лап не отличалась от температуры кожи задних лап крыс без АА, и изучаемые препараты на неё влияния не оказывали.

На 14 сутки после инъекции ПАФ (до начала экспериментальной терапии) в крови крыс всех групп наблюдалось увеличенное на 9,1-28,2% содержание тромбоцитов и повышенный на 12,4-31,8% тромбоцит. Однако на 28 сутки после инъекции ПАФ содержание тромбоцитов и тромбоцит во всех группах крыс с АА, кроме группы, которой вводили диклофенак в дозе 5 мг/кг, не отличались от показателей группы крыс пассивного контроля. На 14 сутки после индукции воспаления у крыс с АА также было повышено процентное содержание сегментоядерных нейтрофилов при компенсаторном снижении лимфоцитов. На фоне гимантана в виде 5% геля и при в/б введении на 28 сутки после индукции воспаления показатель сегментоядерных нейтрофилов снижался по сравнению с зарегистрированным на 14 день значением; диклофенак при обоих способах введения значимо этот показатель не уменьшал.

У крыс с АА на 14 сутки после введения ПАФ прирост массы тела относительно значения до введения ПАФ был на 28,3-37,3% ниже, чем у крыс пассивного контроля. На 21 и 28 сутки после введения ПАФ прирост массы тела крыс группы активного контроля

был соответственно на 32,4% и 31,0% ниже, чем у животных без АА. Изучаемые средства не оказывали влияния на массу тела крыс с АА.

В группе крыс с АА, которым в течение 2 недель опыта на задние лапы наносили 1% гель диклофенака, зарегистрирована гибель 4 из 10 животных. В остальных группах крыс с вторичной иммунологической реакцией на инъекцию ПАФ смертности не наблюдалось.

Таким образом, результаты второго этапа работы свидетельствуют об эффективности 5% геля гимантана на моделях острого экссудативного воспаления у крыс и мышей и на модели вызванного ПАФ АА у крыс.

### *3.3 Оценка анальгетической активности 5% гелевой лекарственной формы гимантана для наружного применения на моделях термической гипералгезии при остром экссудативном воспалении и послеоперационной гипералгезии у крыс*

Третий этап работы посвящён оценке анальгетической активности выбранного на первом этапе 5% геля гимантана в сравнении с 1% гелем диклофенака и гимантаном и диклофенаком при в/б введении на моделях термической гипералгезии при остром экссудативном воспалении и послеоперационной гипералгезии у крыс.

#### *3.3.1 Оценка анальгетической активности 5% геля гимантана на модели термической гипералгезии при остром экссудативном воспалении у крыс*

Острое экссудативное воспаление – каррагенановый отёк левой задней лапы – снижало порог болевой чувствительности крыс в подошвенном тесте через 3 часа после введения р-ра каррагенана: ЛП отдёргивания этой лапы в ответ на подачу луча ИК света уменьшался в 2,5 раза (до 4,5 с) в группе активного контроля по сравнению с группой животных без экспериментальной патологии (11,2 с). 5% гель гимантана при наружном нанесении на левую заднюю лапу через 2 часа после введения в неё р-ра каррагенана значительно снижал гипералгезию в 1,9 раза, что сопоставимо с эффектом 1% геля диклофенака, повышавшего ЛП отдёргивания повреждённой лапы в 2,2 раза по сравнению с активным контролем. Диклофенак в дозе 10 мг/кг увеличивал ЛП отдёргивания левой задней лапы в 2,6 раза; гимантан в дозе 20 мг/кг не оказывал значимого влияния на болевую чувствительность крыс (ЛП в этой группе был равен 6,2 с).

#### *3.3.2 Оценка анальгетической активности 5% геля гимантана на модели послеоперационной гипералгезии у крыс*

Хирургическая манипуляция приводила к механической и термической гипералгезии повреждённой лапы. Механическая гипералгезия в группе активного контроля проявлялась увеличением числа отдёргивания поврежденной лапы в ответ на раздражение её подошвы нитью фон Фрея силой на сгибание, равной 10 г, на 1, 2, 3 и 4

сутки после операции со значения, за день до операции равного 0, до соответственно 7,5; 8,5; 8,0 и 8,0. 5% гель гимантана и гимантан в дозе 10 мг/кг при двукратном ежедневном применении снижали механическую гиперчувствительность левой задней лапы во все дни регистрации (1-4 сутки после операции) до значения, зафиксированного за сутки до операции (равного 0). Гимантан при комбинированной экспериментальной терапии гелевой лекарственной формой для наружного применения (1 применение в сутки) и при введении в дозе 10 мг/кг (2 применение в сутки) проявлял анальгетическое действие, увеличивая порог болевой чувствительности левой задней лапы на 73,3%, 88,2%, 62,5% и 75% на 1, 2, 3 и 4 сутки, соответственно, по сравнению с группой активного контроля. 1% гель диклофенака уменьшал механическую гиперчувствительность левой задней лапы на 86,6%, 88,2%, 75% и 75% с 1 по 4 дни после операции. Снижение механической гиперчувствительности левой задней лапы крыс на фоне диклофенака в дозе 5 мг/кг составило 33,3%, 11,8%, 25%, 43,8% на 1, 2, 3 и 4 дни после операции; на фоне комбинированной терапии диклофенаком в виде 1% геля и при введении в дозе 5 мг/кг – 26,6%, 68,8%, 56,2% и 62,5% соответственно на 1, 2, 3 и 4 дни после операции.

Термическая гипералгезия в группе активного контроля проявлялась снижением ЛП отдёргивания левой задней лапы в ответ на подачу луча ИК света в 2,1 раза (до 4,6 с) на 1 сутки после операции по сравнению с фоновым значением за сутки до операции (9,8 с). На 2, 3 и 4 сутки после операции в группе активного контроля ЛП отдёргивания левой задней лапы повышался соответственно до 5,9, 6,5 и 7,3 секунд, значимая разница с фоновым значением сохранялась на 2 и 3 сутки после операции. Значимое снижение термической гипералгезии у крыс с моделью послеоперационной боли по сравнению с группой активного контроля зафиксировано только на фоне комбинированной терапии диклофенаком на 1 и 2 сутки после операции, соответственно составлявшее 69,6% и 44,1%, и комбинированной терапии гимантаном на 2 сутки после операции, равное 46,6%.

Чувствительность правой задней лапы крыс группы активного контроля в ответ на механическое и термическое раздражение значимо не изменялась относительно фоновых показателей во все дни регистрации, и изучаемые средства на неё не влияли.

Масса крыс с моделью послеоперационной боли во все дни регистрации значимо не отличалась от массы животных за сутки до операции, что подтверждает наличие у них боли слабой выраженности, при которой не снижается потребление пищи и воды.

Таким образом, результаты третьего этапа исследования свидетельствуют о наличии у 5% геля гимантана анальгетической активности, проявляющейся при её однократном нанесении на задние лапы крыс с моделью термической гипералгезии, вызванной острым экссудативным воспалением, и при её ежедневном курсовом наружном

нанесении на задние лапы крыс с моделью послеоперационной боли в отношении механической гипералгезии.

## ВЫВОДЫ

1. Гель-прототип гимантана 5% (содержит действующее вещество и гелеобразователь) при однократном наружном применении оказывает противоболевое действие в острой и тонической фазе формалиновой боли у крыс и снижает обусловленную инъекцией раствора формалина отёчность лап животных, превосходит по эффективности 1% гель-прототип гимантана и не уступает по противоболевому и противовоспалительному эффекту 1% гелю диклофенака.
2. Гелевая лекарственная форма гимантана для наружного применения 5%, содержащая в составе вспомогательных веществ диметилсульфоксид и гидроксипропилметилцеллюлозу, в формалиновом тесте и на модели каррагенанового отёка у крыс более эффективна, чем 5% гелевые лекарственные формы гимантана для наружного применения, содержащие в составе вспомогательных веществ гидроксипропилметилцеллюлозу или поллоксамер Р407.
3. На модели каррагенанового отёка у крыс 5% гель гимантана при однократном нанесении проявляет антиэкссудативный эффект, сопоставимый с эффектом 1% геля диклофенака, гимантана (20 мг/кг) и диклофенака (10 мг/кг) при однократном внутрибрюшинном введении.
4. На модели каррагенанового отёка у крыс 5% гель гимантана при однократном нанесении снижает повышенный уровень продуктов свободно-радикального окисления липидов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой, в гомогенате мягких тканей лап крыс, превосходит по антиоксидатным свойствам диклофенак (1% гель) и гимантан (20 мг/кг, внутрибрюшинно).
5. На модели отёка стопы у мышей, вызванного конканавалином А, 5% гель гимантана при ежедневном применении в течение 10 дней уменьшает воспалительную реакцию на 48,4%, не уступая по эффективности диклофенаку (1% гель; 5 мг/кг, внутрибрюшинно) и гимантану (10 мг/кг, внутрибрюшинно).
6. На модели адьювантного артрита у крыс 5% гель гимантана при ежедневном применении в течение 14 дней, начиная за сутки до индукции воспаления, снижает выраженность отёчного синдрома, не уступает по эффективности гимантану (10 мг/кг, внутрибрюшинно) и диклофенаку (1% гель; 5 мг/кг внутрибрюшинно).
7. У крыс с вторичным иммунным воспалением, вызванным инъекцией полного адьюванта Фрейнда, 5% гель гимантана при ежедневном курсовом применении, начиная с 14 дня после индукции воспаления, снижает отёчность, выраженность гипералгезии,

нормализует координацию движений; снижает уровень сегментоядерных нейтрофилов, не оказывает побочных эффектов.

8. 5% гель гимантана при однократном применении оказывает анальгетическое действие в тесте термической гипералгезии у крыс с каррагенановым отёком лапы, сходное с эффектом диклофенака (1% геля и 10 мг/кг, внутривнутрибрюшинно).

9. 5% гель гимантана при ежедневном курсовом (дважды в сутки) применении оказывает анальгетическое действие на модели послеоперационной боли у крыс в отношении механической гипералгезии, не уступает по эффективности 1% гелю диклофенака при наружном применении, гимантану (10 мг/кг, внутривнутрибрюшинно) и диклофенаку (5 мг/кг, внутривнутрибрюшинно) при ежедневном двукратном введении и комбинациям гимантана (10 мг/кг, внутривнутрибрюшинно) и 5% геля гимантана; диклофенака (5 мг/кг, внутривнутрибрюшинно) и 1% геля диклофенака.

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные данные свидетельствуют о целесообразности расширенного доклинического изучения гимантана в отобранной гелевой лекарственной форме в качестве потенциального противовоспалительного и противоболевого лекарственного препарата для наружного применения в комплексной терапии БКМС.

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АА – адьювантный артрит	ЛП – латентный период
БКМС – болезни костно-мышечной системы	ОА – остеоартроз
в/б – внутривнутрибрюшинно	ПАФ – полный адьювант Фрейнда
ДМСО – диметилсульфоксид	СРО – свободно-радикальное окисление
ГПМЦ – гидроксипропилметилцеллюлоза	ТБК – 2-тиобарбитуровая кислота
ИК – инфракрасный	FDA – Food and Drug Administration
Кон А – конканавалин А	NICE – National Institute for Health and Care Excellence

### Список работ, опубликованных по теме диссертации

*Патент:*

1.Иванова, Е.А. Фармацевтическая композиция в гелевой лекарственной форме для местного применения на основе N-(2-адамантил)-гексаметиленмина гидрохлорида / Е.А. Иванова, Л.Н. Грушевская, К.В. Алексеев, Б.М. Пятин, Т.А. Воронина, А.Д. Дурнев, **А.И. Матюшкин**, Е.В. Блынская, Н.И. Авдюнина. – 2018.

*Статьи в рецензируемых научных изданиях:*

1.Иванова, Е.А. Оценка анальгетической активности гелевых форм гимантана для местного применения в формалиновом тесте у крыс [Текст] / Е.А. Иванова, **А.И. Матюшкин**, Е.В. Блынская, Т.А. Воронина // Химико-фармацевтический журнал. – 2018. – Т. 52. – № 8. – С. 51-55.

2.Иванова, Е.А. Влияние гимантана в лекарственной форме для наружного применения на вызванный полным адьювантом Фрейнда воспалительный процесс у крыс [Текст] / Е.А. Иванова, **А.И. Матюшкин**, Т.А. Воронина // Экспериментальная и клиническая

фармакология. – 2019. – Т. 82. – № 4. – С. 23-27.

3. **Матюшкин, А.И.** Сравнение выраженности воспаления у крыс с первичной реакцией и вторичной иммунологической реакцией на инъекцию полного адьюванта Фрейнда [Текст] / **А.И. Матюшкин**, Е.А. Иванова, С.В. Алексеева, К.С. Качалов, Т.А. Воронина // Биомедицина. – 2019. – Т. 15. – № 2. – С. 75-87.

4. **Матюшкин, А.И.** Влияние диметилсульфоксида на выраженность противовоспалительного и анальгетического действия гелей гимантана [Текст] / **А.И. Матюшкин**, Е.А. Иванова, Т.А. Воронина, Е.В. Блынская, К.В. Алексеев, А.И. Марахова // Фармация. – 2019. – Т. 68. – № 6. – С. 37-41.

5. **Матюшкин, А.И.** Мембранотропные и антиоксидантные свойства гимантана [Текст] / **А.И. Матюшкин**, Е.А. Иванова, Н.Н. Золотов, Т.А. Воронина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2019. – Т. 82. – № 4. – С. 28-31.

6. **Матюшкин, А.И.** Противовоспалительные свойства гимантана в лекарственной форме для наружного применения на моделях каррагенанового и декстрансульфатного отека у крыс [Текст] / **А.И. Матюшкин**, Е.А. Иванова, Н.Н. Золотов, Т.А. Воронина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2020. – Т. 83. – № 5. – С. 47-50.

*Статья в сборнике трудов конференции:*

1. Иванова, Е.А. Оценка противовоспалительного действия 5% гелевых форм гимантана [Текст] / Е.А. Иванова, **А.И. Матюшкин**, Т.А. Воронина // Сборник научных работ, посвященный 35-летию фармацевтического факультета Ярославского государственного медицинского Университета Актуальные вопросы разработки, изучения и обращения лекарственных средств. – Ярославль: Аверс Плюс, 2017. – С. 180-183.

*Тезисы:*

1. **Матюшкин, А.И.** Исследование противоболевого и противовоспалительного действия гелей гимантана [Текст] / **А.И. Матюшкин**, Е.А. Иванова, Т.А. Воронина // Материалы Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 95-летию со дня рождения профессора А.А. Никулина «Достижения современной фармакологической науки». – 2018. – С. 118.

2. **Матюшкин, А.И.** Оценка противоболевой и противовоспалительной активности гимантана в наружной гелевой лекарственной форме [Текст] / **А.И. Матюшкин**, Е.А. Иванова, Т.А. Воронина // Экспериментальная и клиническая фармакология. Материалы V съезда фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств». – 2018. – Т. 81. – № 5s. – С. 156.

3. Иванова, Е.А. Оценка противоболевой активности и мембранотропных свойств производных аминокетона амантадина и гимантана [Текст] / Е.А. Иванова, **А.И. Матюшкин**, И.Г. Капица, Н.Н. Золотов, Е.А. Вальдман, Т.А. Воронина // Экспериментальная и клиническая фармакология. Материалы V съезда фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств». – 2018. – Т. 81. – № 5s. – С. 97

4. **Матюшкин, А.И.** Влияние гимантана при системном введении и местном применении в наружной лекарственной форме на уровень малонового диальдегида при остром экссудативном воспалении у крыс [Текст] / **А.И. Матюшкин**, Е.А. Иванова, Н.Н. Золотов, Т.А. Воронина // Материалы международной научной конференции «Молодые ученые в медицине и биологии». – 2019. – С. 215.

5. Ivanova, E.A. Comparative evaluation of hemantane and diclofenac topical formulations on complete Freund's adjuvant-induced inflammation in rats [Text] / E.A. Ivanova, **A.I. Matyushkin**, T.A. Voronina, A.D. Durnev // TOXICOLOGY LETTERS. – 2019. – Vol. 314, № S1. – P. S178.