

На правах рукописи

КАРАМЯН АРФЕНЯ СЕМЕНОВНА

**ТРАНСБУККАЛЬНЫЙ ПУТЬ ВВЕДЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В
ТЕРАПИИ ЖИВОТНЫХ**

**Специальность: 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология,
фармакология и токсикология**

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Москва 2025

Работа выполнена в департаменте ветеринарной медицины аграрно-технологического института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН)

Научный консультант **Ватников Юрий Анатольевич**, профессор, директор департамента ветеринарной медицины ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», доктор ветеринарных наук

Официальные оппоненты **Квочко Андрей Николаевич** заведующий кафедрой физиологии, хирургии и акушерства заведующий кафедрой физиологии, ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», доктор биологических наук, профессор, профессор РАН

Дельцов Александр Александрович, заведующий кафедрой физиологии, фармакологии и токсикологии имени А.Н. Голикова и И.Е. Мозгова ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», доктор ветеринарных наук, профессор

Пудовкин Николай Александрович, заведующий кафедрой морфологии, патологии животных и биологии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», доктор биологических наук, доцент

Ведущая организация ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет им. И.Т. Трубилина»

Защита диссертации состоится «11» июня 2025 г. в 10.00 часов, на заседании диссертационного совета ПДС 2021.003 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8/2.

С диссертацией можно ознакомиться в Учебно-научном информационно-библиографическом центре Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6.

Автореферат диссертации размещен на сайтах: <https://vak.minobrnauki.gov.ru>, <https://www.rudn.ru/science/dissovet>

Автореферат диссертации разослан «__» апреля 2025г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат ветеринарных наук,
доцент



Семёнова В. И.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Поиск путей введения лекарственных средств продолжает занимать умы ученых всего мира и такие понятия, как биологическая безопасность, биодоступность, эффективность, восприимчивость организма, остаются не только важной составляющей использования имеющихся лекарственных средств, но и требуют постоянного мониторинга. Развитие фармацевтического рынка, использование различных форм препаратов, ценовая политика государств и субъектов, заставляет все больше уделять внимание таким факторам, как поиск экономически обоснованных, стрессо-интактных лекарственных форм у животных (Винникова С.В., Прусаков А.В., Яшин А.В. с соавт., 2022; Володько А.В., Сон Е.Ю. с соавт., 2024;; Esih N, Mezges K. et al., 2024). Анализ рынка ветеринарных фармацевтических препаратов показывает качественное изменение подхода к созданию ветеринарных и медицинских препаратов (Резниченко А.А., Дорожкин В.И. с соавт., 2023; Дельцов А.А., Косова И.В. с соавт., 2023; Janvier S., Cheyngs K. et al., 2018; Santos L.M., Fonseca M.S. et al., 2020; Sharun K., Jambagi K. et al, 2021). К лекарственной форме предъявляются требования обеспечивать рациональную фармакотерапию, оптимальное действие лекарственного вещества и его биологическую доступность (Ческидова Л.В., 2018; Дорожкин В.И., Чигринский Е.А. с соавт., 2020; Прусаков А.В., Яшин А.В. с соавт., 2022; Lauridsen C., 2019; Carnevali L., Montano N. et al., 2021; Dahl D.K., Whitesell A.N. et al., 2022; Dinte E., Muntean M.D. et al., 2023). Вместе с этим, длительное время для терапии тревожных состояний и стресса в качестве анксиолитиков применяли препараты бензодиазепинового ряда, которые обладают рядом побочных эффектов (атаксия, миорелаксация, утомляемость, абстинентный синдром и др.) (Hassan M.H., Awadalla E.A. et al., 2020). Основываясь на результатах многочисленных исследований у животных достоверно доказано развитие патологии органов ЖКТ, сердечно-сосудистых и эндокринных заболеваний (сахарного диабета, гипертиреоза), развитии неоплазий и патологии воспалительного характера на фоне окислительного стресса (Гнездилова Л.А., Гулковская И.В., 2017; Гнездилова Л.А., 2023), сопровождающиеся болевым синдромом. (Позябин С.В., Слесаренко Н.А. с соавт., 2020; Cervantes-García D., Bahena-Delgado A.I. et al., 2021). Прогрессирующее образование активных форм кислорода (АФК) в условиях дисфункции антиоксидантной системы индуцирует нарушения на клеточном, тканевом и органном уровнях (Цой И.В., 2020; Дельцов А.А., 2022;). Процессы перекисного окисления липидов приводят к интенсификации метаболизма арахидоновой кислоты с увеличением содержания лейкотриенов, простагландинов, тромбоксанов, которые поддерживают воспалительный процесс, ухудшают микроциркуляцию, нарушают метаболические процессы в клетке и другие биологические процессы жизнеобеспечения (Barry-Heffernan C., Ekena J., 2019; Парахонский А.П., 2004; Ватников Ю.А., Руденко П.А. с соавт., 2021).

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) – наиболее распространенные лекарственные средства, обладающие противовоспалительным, обезболивающим, жаропонижающим и антикоагулянтными свойствами (Петров В.В., Мацинович М.С., 2021) являются препаратами выбора, используемые повсеместно и ежедневно для купирования болевого синдрома у всех видов животных. В то же время, по данным исследований Kyle R. Duchman; Devin B. Lemmex; Sunny H. Patel, (2019)

НПВП могут являться индукторами гастроэнтеропатий. Врожденная и приобретенная костно-суставная патология собак приводит к развитию болевого синдрома, хромоты, дегенеративным процессам в тканях (Wilson M.L., Roush J.K. et al., 2019; Fernández-Avalos I., Valverde A. et al., 2020; Budsberg S.C., Kleine S.A. et al., 2020; Kerwin S.C., Taylor A.R., 2021; Fadel C., Giorgi M., 2023). В 70-85% случаев хромоты собак причиной является остеоартроз (Гаранин Д.В., 2010; Барсегян Л.С., Ягников С.А. с соавт., 2015), при котором назначаемые селективные НПВП, менее токсичны и не оказывают влияния на заживление ран и являются «золотым стандартом» терапии (Hannah Zhao-Fleming, Audrey Hand, et al., 2018). Возникает необходимость нового подхода к использованию НПВП, который позволил бы минимизировать развитие побочных эффектов (Погребняк К.Ю., 2021; Michael D.J., Charles W.T. et al., 2010). В то же время, исследование влияния опиоидных пептидов на структурно-функциональный и клинично-биохимический статус животных расширяет возможности их применения в ветеринарной медицине. Однако, применение наиболее распространенных лекарственных форм (пероральные и инъекционные) у животных приводит к развитию ряда нежелательных эффектов: стресс, сложность дозирования, низкая биодоступность пероральных форм в сравнении с трансбуккальной, зависимость биодоступности препарата от его природы и структуры. В связи с чем, разработка и практическое внедрение современной лекарственной формы нестероидных противовоспалительных препаратов открывает перспективы купирования болевого синдрома и воспалительного процесса у животных с наименьшим развитием побочных эффектов, что является главной целью настоящего исследования (Данилкина О.П., 2015; Герасимов С.В., Понамарёв В.С. с соавт. 2020; Федорова А.О., 2021; Brandl H.B., Pruessner J.C. et al., 2022; Palandi J., Mack J.M. et al., 2023).

Степень разработанности. Вопросами изучения фармакотерапевтической коррекции с применением НПВС посвящены исследования таких ученых, как Flugel C.L., Majzner R.G et al., 2023; Reitz J., Friedrich M.J. et al., 2023; Lou N., Zhai M. et al., 2023). Согласно представленному анализу статистических данных Е.Ю. Киселевой и А.А. Дарбинян (2018), наиболее часто у животных применение НПВС вызывают гастриты, язву желудка, гастроэнтериты и гастроэнтероколиты, что составляло 12,4%, 6,4%, 15,4% и 16,7% соответственно (Оздемиров А.А., 2018; Жданова И.Н., 2019; Bonagura Jn., Twedt D., 2018) а, суммарно 40,9% среди заболеваний органов ЖКТ. По данным Haider Al-Waeli, Reboucas A.P. et al. (2021) самой распространенной причиной заболеваний органов ЖКТ является однообразное и неполноценное питание, в то время, как К.Р. Patel, S.K. Patel et al. (2018) выделяют длительные и сильные стрессовые воздействия, а также применение незаменимых в ветеринарной практике нестероидных противовоспалительных лекарственных препаратов. Существенный вклад в изучении проблемы назначения НПВП животным внесли С.А. Ягников, Л.С. Барсегян с соавт. (2015) и Н. Scott (2012), Ю.А. Ватников (2012), обосновав незаменимость и высокую эффективность НПВП в терапии патологии опорно-двигательного и связочного аппарата. Таким образом, существует острая необходимость в использовании препаратов данной группы, но также учеными Dzh. Jeliot, A. Purmalis (1988), K. Messenger (2015) выявлена устойчивая гастротоксичность и поражение слизистой оболочки желудка, как следствие развитие НПВП-индуцированной гастропатии, кардиопатии, энтеропатии. Методологической основой использования пептидов в качестве терапевтических средств послужили труды С.А. Алексеенко, С.С. Тимошина (2010), где описано кардиопротективное и

гастропротективное действие пептидных препаратов, в работах А.А. Колесникова, М.Ю. Флейшман (2020) описано применение пептидов и регенерация тканей мозга при травме, в работах В.И. Дейгина и соавт. (2016, 2018, 2019), Е.Н. Сазоновой, Е.Ю. Самариной с соавт. (2016), J. D. Daniel (2020) изучен клинический опыт применения пептидов. Однако, учеными Бабиной С.А., Желтышевой А.Ю. с соавт. (2019); J. Ashish, J. Aviral (2013), установлено, что применение пептидов в пероральных лекарственных формах сопряжено с взаимодействием с агрессивной желудочно-кишечной средой и низкой ферментативной устойчивостью, подвергаются пресистемному метаболизму, ограниченно всасываются в ЖКТ из-за большой молекулярной массы. В мировой фармацевтической практике исследователями, А.С. Егоровой, М.Б. Сапожковой (2013), М. Erak, K. Bellmann-Sickert (2018), а также Ю.А. Обидченко (2015) разрабатываются системы трансбуккальной доставки. Однако, проведенный анализ показал, что в трудах современных ученых не рассматриваются возможности применения подобных новаторских лекарственных форм у животных. Впервые клиническое применение пептидных препаратов описано в работах В.С. Бузламы (2008), И.В. Трутаева (2009), Е.П. Копенкина (2006), Е.А. Карелиной (2018), где в значительной части эти исследования охватывают только разрозненные направления применения пептидных препаратов, быстрорастворимых лекарственных пленок, нестероидных лекарственных препаратов, но не рассматривается возможность комплексного применения НПВП и пептида Седатин, в качестве препарата выбора, обладающего выраженным гастропротективным действием и нивелирующим побочные эффекты НПВП.

В связи с чем, впервые предложено решение проблемы по применению стресспротекторов в совокупности с нестероидными противовоспалительными препаратами в современной лекарственной форме, что является, на наш взгляд, актуальным и представляет значительный практический интерес.

Цель исследования. Научно-обосновать и внедрить в практику трансбуккальный путь введения лекарственных средств при терапии животных с болевым синдромом.

Задачи

1. Определить показатели биологической безопасности быстрорастворимых пленок «Седатин» и «Карпрофен».
2. Исследовать специфическую токсичность и выявить противовоспалительные, анальгетическое, анксиолитические, гастропротективные фармакологические свойства быстрорастворимых пленок «Седатин».
3. Провести фармакокинетический анализ быстрорастворимой пленки «Седатин».
4. Разработать схему сочетанного фармакологического действия быстрорастворимых пленок «Седатин» и «Карпрофен» и провести их клинические исследования в терапии животных с костно-суставной патологией.
5. Теоретически и практически обосновать сочетанное применение нестероидных противовоспалительных препаратов при назначении с опиодными пептидами.
6. Разработать практические рекомендации по применению препаратов «Седатин» и «Карпрофен» для их внедрения в ветеринарную практику в виде трансбуккальных пленок.
7. Выявить влияние лекарственной формы применяемых препаратов на клинко-морфологическую картину крови у больных животных.

8. Оценить морфо-функциональные характеристики органов желудочно-кишечного тракта при применении быстрорастворимых пленок «Седатин» и «Карпрофен» у больных животных.

Научная новизна. Впервые разработаны лекарственная форма трансбуккальной лекарственной пленки, содержащей седатин/карпрофен и проведен сравнительный анализ клинического применения лекарственной формы – пленка трансбуккальная. Доказаны положительные свойства применения в данной лекарственной форме в сравнении с традиционными – таблетками и инъекционными препаратами. Впервые определены фармако-токсикологические свойства синтетического олигопептида седатина и нестероидного противовоспалительного средства карпрофен, изучена фармакокинетика препарата «Седатин» при применении новой лекарственной формы в сыворотке крови методом хромато-масс спектрометрии, нижний предел количественного определения седатина в сыворотке крови крыс составил 9,6 нг/мл. *In vivo*, выявлено прямое цитопротективное действие препарата «Седатин», при применении НПВП, разработана современная лекарственная форма – трансбуккальная пленка для фармакокоррекции болевого синдрома у животных. Впервые установлено, что риск развития гастроэнтеропатии в клинической практике при применении трансбуккальной пленки препарата «Карпрофен», по сравнению с таблетированной формой, снижается на 34,1%. Профилактическое введение препарата «Седатин» оказывает выраженное адаптогенное, стресс-корректирующее воздействие, цитопротективное воздействие при введении доз 10 и 100 мкг/кг. Установлена легкая степень поражения слизистой оболочки тела желудка у 14% животных в подопытной группе с пептидной поддержкой (карпрофен+седатин), средняя степень поражения в 30% случаях в группе без пептидной поддержки (карпрофен). В антральной части поражение слизистой оболочки было обнаружено в 10 % случаях легкой степени (карпрофен+седатин), в 16% случаях средней тяжести (карпрофен). При этом, достоверно значимых различий в тяжести воспаления между зоной тела желудка и антральной частью не обнаружено. В рамках проведенной курсовой терапии у собак установлено достоверное снижение уровня лейкоцитов на 12,7% в группе с монотерапией (карпрофен) и на 30,5 % в группе с сочетанным применением (карпрофен+седатин), снижение уровня белка на 3,6% (в группе – карпрофен) и повышение на 6,93% в группе животных с сочетанной терапией (карпрофен+седатин). Сочетанное применение при купировании воспалительного процесса оказалось наиболее эффективным, за счет новой лекарственной формы, повышенной биодоступности. Пептидное гастропротективное действие снижает гастротоксический эффект, обусловленный ингибированием фермента циклооксигеназы (ЦОГ). В результате 10-дневного курсового применения препарата «Седатин» в лекарственной форме пленка трансбуккальная в дозе 100 мкг/кг установлена положительная динамика изменений гематологических показателей: снижение уровня лейкоцитов на 17% и снижение уровня белка на 15% в первой группе, против 22,8% и 13,5% снижения уровня белка во второй и третьей группе соответственно.

Научная новизна и актуальность проведенных исследований подтверждена патентами: «Быстро растворяющаяся трансбуккальная плёнка для лечения депрессивных расстройств, тревоги и расстройств адаптации», патент №2622018 (РФ; Изобретение, 2017 г.), «Устройство для фиксации мелких грызунов», патент № 218414 (РФ; Полезная модель, 2023 г.).

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическую значимость имеют полученные данные о биологической безопасности, цитопротективной и антиоксидантной активности препарата «Седатин» в различных клеточных популяциях белых крыс, как в норме, так и при воздействии патогенных факторов. В связи с высоким потенциалом и перспективой использования пептидной терапии особое внимание уделено лекарственной форме, трансбуккальный путь введения и трансбуккальные пленки в данном аспекте имеют неоспоримое превосходство. При сравнении наиболее популярных и используемых в ветеринарной практике лекарственных форм (таблетки, инъекционные формы) трансбуккальные пленки представляют высокий интерес и способствуют расширению назначений и использования пептидных препаратов, а также уменьшения побочного воздействия препаратов из группы НПВП при длительном курсовом назначении. Разработана современная лекарственная форма – пленка трансбуккальная для применения у животных, способная снизить стрессовую реакцию как при фармакотерапии, так и при воздействии других стресс-индуцирующих факторов. Выявленные эффекты препарата «Седатин» будут способствовать разработке и внедрению в практическую ветеринарную медицину новых фармакологических препаратов для коррекции структурных нарушений. Важное теоретическое и практическое значение имеет повышение биодоступности лекарственного препарата путем микронизации субстанции карпрофена, что способствует повышению растворимости, снижению токсичности и повышению эффективности. Расширение применения новой лекарственной формы в ветеринарной медицине позволит уменьшить развитие побочных эффектов, возникающих при назначении препаратов, вызывающих развитие постинъекционных осложнений. Полученные клинико-морфологические, гематологические и результаты инструментальных методов исследования данной работы позволят расширить показания к использованию пептида «Седатин» в клинической практике в качестве фармакологического препарата с антиоксидантным, антигипоксантичным, стресспротективным, гастропротекторным свойствами.

Основные результаты, полученные в работе, внедрены в учебный процесс при подготовке лекционного материала и создании учебно-методических пособий по специальностям «Ветеринария», «Фармация» и по направлению магистратуры «Создание и разработка лекарственных средств» в рамках клинических дисциплин фармакология, медицинская биохимия, токсикология, доклинические исследования и разработка в учебных заведениях ветеринарного, медицинского и биологического профиля (акт внедрения от 12 февраля 2020 г., 9 февраля 2023 г., 10 марта 2025 г.). Результаты проведенных исследований могут послужить основой для расширения показаний применения современной лекарственной формы – пленка трансбуккальная, в ветеринарной медицине как сельскохозяйственных животных, так и животных-компаньонов (акт внедрения от 14 октября 2020 г.). Полученные результаты внедрены в практическую деятельность (акт внедрения от 13 августа 2020 г.). Подготовлены методические рекомендации «Технология изготовления и метод применения быстрорастворимых пленок в практике ветеринарной медицины», утвержденные и рекомендованные к печати секцией зоотехнии и ветеринарии отделения сельскохозяйственных наук РАН, Москва, 2021 г. Основные результаты, полученные в работе, могут быть внедрены в учебный процесс при подготовке лекционного материала и создании учебно-методических пособий по специальностям

патологическая физиология, фармакология и токсикология, терапия в учебных заведениях ветеринарного и биологического профиля.

Методология и методы исследования. Методологической основой исследования явились теоретические разработки новой лекарственной формы для ветеринарного применения, создание и разработка технологии изготовления, экспериментального и клинического применения лекарственных препаратов в новой лекарственной форме. Основой теоретического обоснования выбора темы является изучение рынка лекарственных препаратов для ветеринарного применения, широта использования нестероидных противовоспалительных препаратов, поиск новых лекарственных форм и препаратов и фармакокоррекция болевого синдрома при патологии органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) у животных. Объектом исследования служили лабораторные животные, клинические исследования были проведены на собаках и лошадях. Предметом исследования – гастротоксические эффекты поражения слизистой оболочки желудка и кишечника в исследованиях *in vivo* на биологических тест-системах и клинические исследования на животных с патологией органов ЖКТ и опорно-двигательного аппарата. Работа проведена согласно утвержденным методикам и нормативной документации для проведения доклинических исследований лекарственных препаратов, гематологических, иммунологических, инструментальных и патоморфологических исследований. При проведении исследований использовали методы патентного поиска, анализа, сравнения, обобщения, манипуляции при фармакотерапии, комплексный подход в изучении факторов развития патологии, современное фармацевтическое, лабораторное оборудование и методы статистического анализа экспериментальных данных.

Степень достоверности и апробация результатов исследования. Степень достоверности полученных данных регламентируется дизайном исследования, оценкой как сравнительного применения различных лекарственных форм препарата, так и сочетанным применением различных препаратов для определения возможности их совместного применения в терапии животных, соблюдая современные регуляторные требования к объему исследований, процессу формирования выборки экспериментальных животных и животных-пациентов, с применением современных методов клинических, лабораторных и инструментальных методов анализа. Результаты научных и клинических исследований были доложены на международной научно-практической конференции: «8-ая международная специализированная выставка «Лаборатория Экспо – 2010» (Москва, 2010 г.), «Материалы IV съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Актуальные вопросы ветеринарии фармакологии, токсикологии и фармации» (Москва, 2013 г.), «Материалы международной научно-практической конференции «Теоретические и прикладные проблемы современной науки и образования» (Курск, 2013 г., 2015 г.), «Annual International Conference on Biology» (Греция, Афины, 2015 г.), «Приоритетные направления развития современной науки молодых учёных аграриев Материалы V-ой Материалы международной научно-практической конференции. молодых ученых, посвящ. 25-летию ФГБНУ «Прикаспийский НИИ аридного земледелия» (ФГБНУ «ПНИИАЗ», с. Соленое Займище, 2016 г.), «IX международный конгресс биотехнология: состояние и перспективы развития 20-22 февраля 2017, Москва, Гостиный двор» (Москва, 2017г.), «Сборник трудов VIII межвузовской конференции по клинической ветеринарии в формате Purina Partners» (Москва, 2018 г.), «11th International Conference and Exhibition on «Metabolomics & Systems Biology» (Japan.

Tokyo. May 17-19, 2018), «The 44th FEBS Congress «From Molecules to Living Systems» (Poland, Krakow, 2019), «Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии. Сборник научных трудов учебно-методической и научно-практической конференции, посвященной 100 летию со дня основания ФГБОУ ВО ВГАВМиБ МВА им. К.И. Скрябина» (Москва, 2019 г.), «II МНПК «Гармонизация подходов к фармацевтической разработке» (Москва, 2019 г., 2020 г.), «X Всероссийская научно-практическая конференция «Научная инициатива иностранных студентов и аспирантов российских вузов» (Москва, 2020 г.), XIII Международная научно-практическая конференция молодых ученых «Инновационные процессы в сельском хозяйстве» (Москва, 2021 г., 2022 г.), «VI научно-практическая конференция Международная интеграция в сфере химической и фармацевтической промышленности» (Москва, 2022 г.), Международная конференция «Качество и безопасность продуктов питания» «Food quality food safety» (FQFS-2022) (Москва, 2022 г.), XV Международная научно-практическая конференция молодых ученых «Инновационные процессы в сельском хозяйстве» (Москва, 2023), Научно-практический семинар «Актуальные вопросы содержания, разведения и поведения животных в неволе» (Кубинка, МО, 2023), Международная научно-практическая конференция «Animal science & veterinary medicine» (Дубай, ОАЭ, 2023), VI МНПК «Аграрная наука в обеспечении продовольственной безопасности и развития сельских территорий» (г.Луганск, ЛНР, 2025г.).

Соавторами ряда исследований выступили ведущие ученые РФ. Синтетический олигопептид седатин синтезировался при участии доктора биологических наук Дейгина В.И. (ГНЦ ФГБУН ИБХ им. академиков М.М. Шенякина и Ю.А. Овчинникова РАН), технология изготовления лекарственной формы – пленка трансбуккальная была разработана совместно с к.фарм.н., заведующим центром технологии и разработки «НоваМедика Иннотех» Обидченко Ю.А.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Результаты предметных теоретических исследований, включая логико-смысловой контент- дизайн исследования.
2. Результаты исследования биологической безопасности и общетоксического действия, исследования специфической активности и фармакокинетики трансбуккальных пленок на основе препаратов «Карпрофен» и «Седатин».
3. Разработана современная лекарственная форма для терапии болевого синдрома при патологии органов желудочно-кишечного тракта.
4. При применении в терапии животных схемы, основанной на профилактике стресса, купировании болевого синдрома предложенной лекарственной формой препаратов в течение 3-4-х суток наблюдали улучшения, на 7-ые сутки – основные показатели клинического, биохимического, капрологического исследования достигали референсных-показателей.
5. Введение пептида «Седатин» – корректирует морфо-функциональные нарушения слизистой оболочки желудка в сочетании с препаратом «Карпрофен» при патологии опорно-двигательного аппарата.
6. Клинико-морфологическая эффективность сочетанного применения препаратов (карпрофен+седатин) при курсовом приёме (макро-, микрокартина органов) в терапии болевого синдрома у собак и лошадей.

Публикации. По материалам собственных исследований опубликовано 35 работ, в т. ч.: 14 статей в журналах, рекомендованных перечнем РУДН, ВАК

Минобрнауки РФ, цитируемых в базах данных Scopus и Wos, 16 тезисов докладов, 2 патента РФ, 3 методических рекомендаций.

Структура и объем диссертации. Основное содержание работы изложено на 286 страницах машинописного текста, рукопись состоит из введения, обзора литературы, основного содержания работы, включающего материалы и методы, результаты собственных исследований, анализ и обсуждение результатов исследований, а также заключения, списка использованной литературы и приложений. Список использованных литературных источников включает 375 источника, из них 166 русскоязычных и 209 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 84 таблицами и 97 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования. Исследование проведено на базе департамента ветеринарной медицины аграрно-технологического института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы».

Экспериментальная и клиническая части выполнена на базе ЦКП(НОЦ) РУДН (с 2021 г. НОРЦ «Фармация»), «Апрелевский ветеринарный центр» (МО), «ЗооАкадемия» (Москва), СББЖ г. Наро-Фоминск (МО), «Новый век» (МО) и виварий РУДН в период с 2012 по 2022 гг.

Методы, стандарты и методики, использованные в исследовании. В целях реализации поставленных задач были выполнены экспериментальные и научно-производственные опыты на лабораторных и клинических животных. Экспериментальные исследования, содержание, уход и эвтаназия животных проводили в соответствии с планом исследований, этическими принципами гуманного обращения с животными, было регламентировано действующим законодательством РФ и соответствующими нормативными документами: положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (ETS № 123, Страсбург, 1986); «Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях»; требованиями к врачебно-биологическому эксперименту по подбору аналогов, постановке контроля, соблюдению одинаковых условий кормления и содержания животных в период проведения работы и учета результатов (Фролов И. Т., 1965); Условия содержания животных соответствуют отечественным стандартам (Санитарно-эпидемиологическими правилами СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» (утв. постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 29 августа 2014 г. № 51; Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010 N 61ФЗ. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, часть 1 (под ред. А.Н. Миронова, 2012).

Правила проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения (Приказ Минсельхоза РФ от 6 марта 2018 г. №101 «Об утверждении Правил проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения; «Guide for the Care and Use

of Laboratory Animals / Руководство по уходу и использованию лабораторных животных» (National Research Council, 2011).

При проведении экспериментов использовали следующие виды исследований: токсикологические (n=177), фармакокинетические (n=36), клинические (n=148), гематологические (n=1408), биохимические (n=728), патологоанатомические (n=995), гистологические (n=78), статистические и другие. Общий дизайн диссертационного исследования представлен на рисунке 1.



Рис. 1 – Общий дизайн диссертационного исследования

Материалы, использованные в исследовании. Седатин, плёнка быстрорастворимая, производитель – ЦКП (НОЦ) РУДН, Россия, серия 200316. Седатин®, раствор для внутримышечных инъекций (препарат сравнения), производитель – ООО «Фарма БИО», Россия, серия 10811. Карпрофен, плёнка

быстрорастворимая, производитель – ЦКП (НОЦ) РУДН, Москва, Россия, серия 200316. Норокарп, таблетки, 20 мг (препарат сравнения, МНН: Карпрофен), производитель – «Norbrook Laboratories Limited», Великобритания, серия BN 3325-600. Для исследования были отобраны собаки различных пород (n = 139) в возрасте от 1-го до 13-ти лет домашнего содержания с проявлениями болевого синдрома и патологией органов ЖКТ, лошади с симптомом хромоты (n = 19). Животные были отобраны после проведения клинических и лабораторных исследований. Для выполнения доклинических исследований были использованы стандартные лабораторные животные: кролики породы «Советская шиншилла» (n = 96, самцы), для проведения фармакокинетических исследований и (n = 20, самцы) для изучения токсичности при многократном введении («подострая» токсичность) препарата «Седатин» и препарата «Карпрофен» для купирования болевого синдрома (n = 25, самцы); аутбредные белые мыши (n = 132, самцы) – для изучения токсичности при однократном введении («острая» токсичность), для проведения фармакокинетического исследования – n=96, самцы, при пероральном введении в дозе 100 мкг/кг; аутбредные белые мыши (n = 102) и аутбредные белые крысы (n = 308) – для проведения тестов по изучению специфической активности; хомяки (n = 55, самцы) – для оценки анксиолитической активности препарата «Седатин» (ЦКП (НОЦ) РУДН) при трансбуккальном введении в условиях моделирования экспериментального стресса. Животных содержали в стандартных условиях вивария РУДН в соответствии с «Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных», National Academy press. – Washington, D.C. 1996, ГОСТ Р 53434-2009.

Методы и методики, использованные в исследовании: Научно-методологические аспекты исследования токсических свойств фармакологических лекарственных средств для животных (Смирнов А.М., Дорожкин В.И., 2008). *Токсикологические исследования:* показатели острой токсичности определяли методом пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксона (М. Д. Беленький, 1963).

Фармакокинетические исследования проведены с использованием высокоэффективного жидкостного хроматографа «Agilent 1200» (США), с масс-детектором «Agilent 6430» (США). Исследование *фармакологических свойств* проводили согласно методикам, описанным в «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, часть 1» (под ред. А.Н. Миронова, 2012; ICH S1, S2, Стандартные протоколы ОЭСР).

Клинические исследования проводили с учетом требований изложенных в рекомендациях Бажибиной Е.Б., Коробова А.В. с соавт., 2004; Уша Б.В., Белякова И.М., 2019. Все животные, поступившие на прием в ветеринарные клиники проходили процедуры первичного приема: сбор анамнеза, осмотр, взвешивание.

Макроскопическая картина исследуемых органов ЖКТ производилась по критериям (Jubb K.V.F., Kennedy P.C. et al., 2012; Southard T., McDonough S.P., 2016).

Гематологические исследования проводили на автоматическом ветеринарном гематологическом анализаторе «PCE 90VET». Отбор проб крови производили из периферических вен конечностей объемом до 2,0 мл в одноразовые пластиковые пробирки с EDTA (Sarstedt, Германия) по методу Долгова В.В., Луговской С.А. с соавт., 2001. Подсчет клеток крови в мазках осуществляли в световом микроскопе «Nicon» (Япония) при увеличении 400× и в счетной камере Горяева.

Биохимические исследования проводили на автоматическом биохимическом анализаторе Pab 650 (США) с использованием реактивов «BioSystems» (Испания) (Бажибиной Е.Б., Коробова А.В. с соавт., 2004; Уша Б.В., Белякова И.М., 2019).

Копрологическое исследование проб кала на определение скрытой крови, стеркобилина, билирубина и приготовления препарата для микроскопии проводили с использованием набора «Клиника-кал», ЗАО «Эколаб» (Россия).

Патоморфологические исследования методике, описанной А.Г. Сапожковым с соавт., 2000. Исследования проводили с использованием гистологического оборудования фирмы Leica (Германия). Для оцифровки изображений использовали микроскопы Nikon Coolscope II, Olympus CX4. Весы лабораторные (ГОСТ 24104-2001) аналитические «MX5» «Mettler Toledo» (Швейцария) с погрешностью взвешивания не более $\pm 0,001$ мг.

Для вычислительных операций и построения графиков, а также систематизации объема данных использованы программы Microsoft Office Excel, Statistics 10 и Интернет-ресурс <http://www.medstatistic.ru>. Статистические выборки подвергали исследованию на нормальность распределения, используя W-критерий Шапиро-Уилка. Определяли среднюю арифметическую величину (M), ее стандартную ошибку (m). Сравнение этих показателей между группами «опыт» - «контроль» проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Различия показателей считали достоверными при $p < 0,05$. Результаты исследования обрабатывали с использованием программы «Statistica 10.0». Экспериментальные данные обрабатывались с помощью ANOVA-анализа с последующим «post-hoc» сравнением средних в каждой экспериментальной группе. Диссертация и автореферат оформлены с учетом рекомендаций ГОСТ Р 7.0.11-2011, ГОСТ Р 7.0.5-2008, ГОСТ Р 7.0.100 – 2018. Используемые в диссертации сокращения, аббревиатуры, клиническая терминология является международно признанной и отображает научный стиль изложения результатов исследований (Н.А. Слесаренко, М.Е. Обухова, 2012; Н.В. Бабичев, 2018;).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Оценка безопасности препаратов «Седатин» и «Карпрофен». В экспериментах на лабораторных животных определена острая и субхроническая токсичность исследуемого препарата «Седатин, быстрорастворимая плёнка» в сравнении с препаратом «Седатин[®], раствор для интраназального применения, 1 мг/мл». В опытах по острой токсичности на мышах было показано, что величина ЛД₅₀ испытуемого препарата «Седатин, быстрорастворимая плёнка» и препарата сравнения Седатин[®], раствор для интраназального применения, 1 мг/мл установить не удалось. Картины интоксикации животных были идентичны при введении обоих препаратов. Оба препарата следует отнести к V классу «Практически нетоксично» по «Классификации степеней токсичности по Hodge и Sterner». Последующее наблюдение за животными не выявило отклонений во внешнем виде, состоянии шерстного покрова и слизистых оболочек, характере выделений, поведенческих реакциях, прироста массы тела. При трансбуккальном применении испытуемого препарата «Седатин, быстрорастворимая плёнка» и препарат сравнения «Седатин[®], раствор для интраназального применения, 1 мг/мл» каких-либо различий проявления токсических эффектов у животных не было отмечено. В субхроническом эксперименте на кроликах препарат «Седатин, быстрорастворимая плёнка» и препарат сравнения «Седатин[®], раствор для интраназального применения, 1 мг/мл» в дозе 0,05 мг/кг не оказывали токсического действия при введении в течение 30 дней исследуемого препарата и препарата сравнения. Оба препарата не оказывали отрицательного воздействия на показатели

периферической крови и биохимические показатели крови, детоксицирующую функцию печени. При пероральном введении исследуемых препаратов не было зарегистрировано признаков местновоспалительной реакции слизистой оболочки ЖКТ и местнораздражающего действия. В экспериментах на лабораторных животных была изучена острая и субхроническая токсичность исследуемого препарата «Карпрофен, плёнка трансбуккальная» в сравнении с препаратом «Норакарп[®], таблетки для орального применения». В опытах по острой токсичности на мышах было показано, что величина ЛД₅₀ испытуемого препарата «Карпрофен, плёнка трансбуккальная» и препарата сравнения «Норакарп[®], таблетки для орального применения» была установлена и равнялась 282 мг/кг. Картина интоксикации у животных были идентичны при введении обоих препаратов. Оба препарата следует отнести к III классу «Умереннотоксично» по «Классификации степеней токсичности по Hodge и Sterner». Последующее наблюдение за животными не выявило отклонений во внешнем виде, состоянии шерстного покрова и слизистых оболочек, характере выделений, поведенческих реакциях, прироста массы тела. При трансбуккальном применении испытуемого препарата «Карпрофен, плёнка трансбуккальная» в сравнении с препаратом «Норакарп[®], таблетки для орального применения» каких-либо различий проявления токсических эффектов у животных не было отмечено. В субхроническом эксперименте на кроликах препарат «Карпрофен, плёнка трансбуккальная» и препарат сравнения «Норакарп[®], таблетки для орального применения» в дозе 1,3 мг/кг не оказывали токсического действия при введении в течение 30 дней исследуемого препарата и препарата сравнения. Оба препарата не оказывали отрицательного воздействия на показатели периферической крови и биохимические показатели крови, детоксицирующую функцию печени. При пероральном введении исследуемых препаратов наблюдали явное макро- и микроскопическое изменение картины, снижение гастротоксичности препарата в лекарственной форме желатиновой плёнки по сравнению с таблетированной формой, даже в дозе, превышающей в 2 раза терапевтическую – плёнка трансбуккальная, 8 мг. Риск развития гастроэнтеропатии при применении желатиновых плёнок по сравнению с таблетированной формой снижается на 34,1% у кроликов в группе, получавших терапевтическую дозу препарата. Таким образом, очевидна перспектива снижения степени проявления негативных эффектов на органы ЖКТ при курсовом использовании НПВП в виде желатиновых плёнок.

ИССЛЕДОВАНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА «СЕДАТИН».

В результате проведенных исследований установлено, что препарат «Седатин» не обладал мутагенной активностью при исследованиях на различных модельных объектах. *In vitro* исследования показали, что препарат «Седатин» в концентрациях от 0,03 до 15 мкг/мл не обладал мутагенной активностью в культуре клеток лимфоцитов. Препарат «Седатин» также не обладал цитогенетической активностью в тесте на индукцию хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей во всём диапазоне изученных доз. Кроме того, препарат «Седатин» в дозе 100 мкг/кг показал отсутствие мутагенной активности в тесте доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках мышей. Подкожное введение половозрелым самкам крыс препарата «Седатин» в дозе 20 мг/кг ежедневно в течение первых 20 дней беременности не нарушало

нормального течения беременности, родов и инстинкта материнства. Препарат «Седатин» не влиял на тератогенность и оссификацию костной системы плодов, не нарушал нормального постнатального развития потомства первого поколения. Результаты исследований эффектов препарата «Седатин» на иммунитет доказано, что препарат обладает слабо выраженной иммуномодулирующей активностью в тест-системах мышей и крыс. В дозе 0,2 мг/кг препарата «Седатин» несколько стимулирует первичный гуморальный иммунный ответ, а при повышении дозы в >50 раз приводит к снижению гуморального иммунного ответа. При этом препарат «Седатин» не проявляет существенного влияния на клеточный состав или массу лимфоидных органов, но обладает способностью стимулировать поглотительную активность фагоцитирующих клеток. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что препарат «Седатин» в дозе 0,2 мг/кг у крыс алергизирующими свойствами не обладает, а в дозе 2 мг/кг, препарат проявляет анафилактическую активность в реакции кожного теста. Исследование специфической токсичности препарата «Карпрофен» не проводили в связи с ранней изученностью препарата.

ИССЛЕДОВАНИЯ СПЕЦИАЛЬНЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА «СЕДАТИН».

Изучение анальгетической активности. Поскольку исходным соединением при создании препарата «Седатин» был опиоидоподобный пептид дерморфин, представлялось целесообразным проверить его возможное анальгетическое действие. Для проведения такого исследования использовали стандартный тест «отдёргивания хвоста». Полученные результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты изучения влияния препарата «Седатин» на болевую чувствительность белых крыс в тесте «отдёргивания хвоста» (n = 12)

Время наблюдения, мин.	Контроль	«Седатин», 10 мкг/кг	«Седатин», 100 мкг/кг
Латентный период	5,6 $\pm$ 0,4	5,4 $\pm$ 0,5	5,4 $\pm$ 0,3
15	5,3 $\pm$ 0,5	4,5 $\pm$ 0,6	5,8 $\pm$ 0,4
30	5,1 $\pm$ 0,5	5,7 $\pm$ 0,8	5,4 $\pm$ 0,4
45	5,6 $\pm$ 0,5	4,7 $\pm$ 0,5	5,6 $\pm$ 0,5*
60	5,1 $\pm$ 0,6	4,5 $\pm$ 0,5	5,3 $\pm$ 0,5*
75	5,2 $\pm$ 0,5	5,2 $\pm$ 0,7	4,8 $\pm$ 0,6
90	5,4 $\pm$ 0,5	5,1 $\pm$ 0,6	5,3 $\pm$ 0,6
105	5,4 $\pm$ 0,4	5,1 $\pm$ 0,5	5,8 $\pm$ 0,5
120	5,8 $\pm$ 0,6	5,1 $\pm$ 0,6	4,7 $\pm$ 0,5

Примечание- Данные представлены в виде (среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего), * – $p < 0,05$;

Ни в одной из исследованных доз препарат «Седатин» не показал достоверно значимого анальгетического эффекта. По результатам эксперимента установлено, что у препарата «Седатин» отсутствует способность вызывать положительное эмоциональное состояние у животных в дозах 10 и 100 мкг/кг. Установлено, что исследуемый препарат в дозе 10 мкг/кг, но не 100 мкг/кг вызывал только достоверное

снижение длины пробега и увеличение числа отходов от стенки арены в 2 раза при дозе в 10мкг/кг и в 2,12 раз в дозе 100 мкг/кг у самок и 1,63 раза в дозе 10 мкг/кг и 1,73 в дозе 100 мкг/кг у самцов (таблица 2). Общий характер изменений поведения крыс, зарегистрированных в тесте «открытое поле», свидетельствует о снижении уровня тревожности и усилении ориентировочно-исследовательской реакции экспериментальных животных под действием исследуемого препарата.

Таблица 2 – Результаты изучения влияния препарата «Седатин» на поведение белых крыс в тесте «открытого поля»

Регистрируемые параметры	Контроль	Седатин, 10 мкг/кг	Седатин, 100 мкг/кг
Самцы, n = 8			
Латентный период	2,6±0,3	2,5±0,2	2,4±0,3
Пробег	55,9±3,5	68,3±3,5**	59,2±2,7
Стойки	10,3±1,6	11,6±1,2	10,5±1,2
Отходы от стенки арены	1,9±0,6	3,1±0,5*	3,3±0,5*
Самки, n = 8			
Регистрируемые параметры	Контроль	Седатин, 10 мкг/кг	Седатин, 100 мкг/кг
Латентный период	2,4±0,2	2,3±0,1	2,4±0,4
Пробег	53,6±3,1	62,1±3,1**	61,3±2,1
Стойки	11,1±1,1	11,1±1,3	11,5±1,1
Отходы от стенки арены	1,6±0,4	3,2±0,3*	3,4±0,6*

Примечание- * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

Изучение стресс-корректирующей активности препарата «Седатин». Стресс вызывал у всех животных поражение слизистой гастродуоденальной зоны в виде отека, гиперемии, очагов кровоизлияния, эрозий и язвенного повреждения. Результаты исследования показали, что во всех исследуемых дозовых группах препарата «Седатин» наблюдается резкое снижение числа животных с язвообразованием (таблица 3).

Таблица 3 – Результаты оценки стресс-корректирующего действия препарата «Седатин» при однократном подкожном введении крысам

Группы подопытных животных	Животные с поражениями слизистой желудка, %	Суммарная длина образовавшихся очагов поражения, мм
Самки, n = 10		
Контроль	78,6	3,86±0,52
Седатин, 10 мкг/кг	31,3**	0,23±0,22**
Седатин, 100 мкг/кг	32,7**	1,57±0,87
Седатин, 1000 мкг/кг	46,1*	0,95±0,42*
Самцы, n = 10		
Группы подопытных животных	Животные с поражениями слизистой желудка, %	Суммарная длина образовавшихся очагов поражения, мм
Контроль	72,5	3,45±1,01

Седатин, 10 мкг/кг	27,2**	0,21±0,12**
Седатин, 100 мкг/кг	27,6**	1,15±0,43
Седатин, 1000 мкг/кг	42,4*	0,57±0,33*

Примечание- * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

При использовании «Седатина» слизистая желудка и 12-перстной кишки выглядела менее поврежденной. Тяжесть поражения желудка уменьшилась на 31% при введении 10 мкг/кг и 100 мкг/кг у самок и на 27% у самцов, а суммарная длина поражений снизилась в 2,1 раза в дозе 10 мкг/кг по сравнению с дозой 1000 мкг/кг.

Исследования иммунотоксичности препарата «Седатин». По результатам исследования было отмечено, что масса селезёнки и тимуса мышей после введения исследуемого препарата не изменялась. Однако при введении препарата «Седатин» в дозе 0,2 мг/кг отмечалось увеличение общего числа ядродержащих клеток (в 1,2 раза) по отношению к контролю. При введении более высоких доз препарата (10 мг/кг и 100 мг/кг) не выявлено увеличения клеточности селезёнки.

Исследованиями установлено, что препарат «Седатин» в дозе 0,2 мг/кг вызывал увеличение числа антителообразующих клеток в селезёнке в 1,24 раза у самок и 1,31 у самцов, а в пересчете на 1000 спленоцитов в 1,3 раза по отношению к контролю (таблица 4). Введение препарата в дозах 10 и 100 мг/кг приводило к снижению численности антителообразующих клеток, соответственно, в 0,46 и 1,33 раза у самок и в 0,52 и 1,38 у самцов.

Таблица 4 – Исследование влияния препарата «Седатин» на иммунный и гуморальный иммунный ответ

№ п/п	Параметры	«Седатин» 0,2 мг/кг	«Седатин» 10 мг/кг	«Седатин» 100 мг/кг	Контроль (физ.р-р)
1.	Подсчет кол-ва антителообразующих клеток (АОК) **				
2.	Самки	52,1±1,2	21,87±1,7	13,36±1,3	40,5±1,4
3.	самцы	58,3±1,3	23,51±1,2	17,25±1,1	44,5±0,8
4.	Фагоцитарный индекс:				
5.	Самки	97,2±1,2***	96,8±1,7	73,36±1,3	70,5±1,4
6.	самцы	78,3±1,3*	73,51±1,2	77,25±1,1	71,5±0,8
7.	Фагоцитарное число:				
8.	Самки	13,2±0,8	9,9±0,9	8,0±0,2	8,26±1,2
9.	самцы	14,0±1,2	9,5±1,3	8,4±1,1	8,8±0,9

Примечание. * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$; ** - подсчет на 10^3 спленоцитов

Таким образом, «Седатин» в дозе 0,2 мг/кг стимулирует, а в дозах 10 и 100 мг/кг подавляет гуморальный иммунный ответ. Эксперименты показали, что в присутствии препарата «Седатин» в дозе 0,2 мг/мл в пробах с перитонеальными макрофагами количество фагоцитирующих клеток увеличилось до 100% по отношению к контролю (97,2±1,2), а индекс фагоцитоза повысился до 13,2±0,8 по отношению к контролю (8,26±1,2). В присутствии десятикратной дозы препарата «Седатин», 10 мг/мл, фагоцитарное число (96,8±1,7) и индекс фагоцитоза (70,5±1,4) были сопоставимы с контролем. При введении препарата «Седатин» в дозах 10 и 100 мг/кг фагоцитарный индекс увеличился по отношению к контролю (71,5±0,8) и составлял 8,26±1,2 и 8,8±0,9, соответственно относительно контроля. При изучении влияния препарата «Седатин» на

фагоцитоз на мышах-самцах линии BALB статистически достоверных различий фагоцитарного числа между группами не обнаружено.

Изучение анксиолитического действия препарата на модели экспериментального стресса. Определение фармакологической активности исследуемых препаратов проводили с использованием хомяков сирийских. Моделирование экспериментального стресса осуществляли на пятый день многократного введения: через 30 мин. после последнего введения препаратов. На рисунках 2-6 представлены результаты проведенной оценки экспериментального стресса хомяков сирийских.

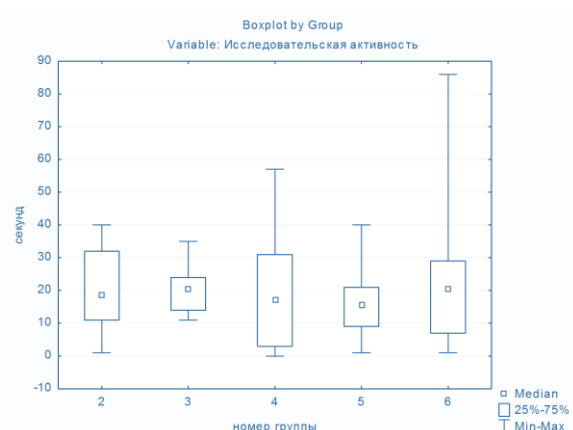


Рис.2. Длительность исследовательской активности животных, сек. (Q₁; Q₃):

- 2 – контрольное вещество (n = 10);
- 3 – «Седатин» в дозе 8 мкг/кг (n = 10);
- 4 – «Седатин» в дозе 25 мкг/кг (n = 10);
- 5 – «Седатин» в дозе 75 мкг/кг (n = 10);
- 6 – Феназепам® в дозе 740 мкг/кг (n = 10)

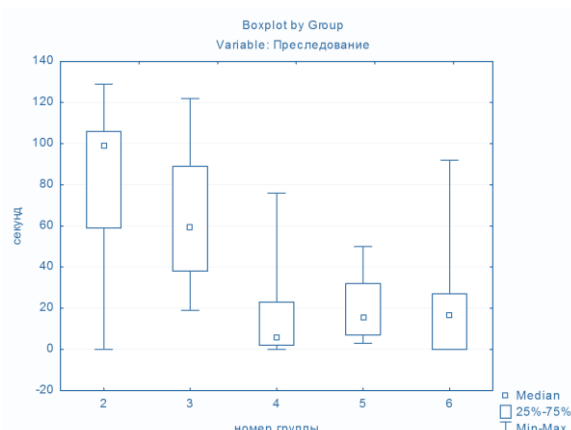


Рис.3. Длительность преследований, сек. (Q₁; Q₃):

* – статистически значимое отличие от контрольной группы (Kruskal-Wallis ANOVA and median test, $p < 0,05$):

- 2 – контрольное вещество (n = 10);
- 3 – «Седатин» в дозе 8 мкг/кг (n = 10);
- 4 – «Седатин» в дозе 25 мкг/кг (n = 10);
- 5 – «Седатин» в дозе 75 мкг/кг (n = 10);
- 6 – Феназепам® в дозе 740 мкг/кг (n = 10)

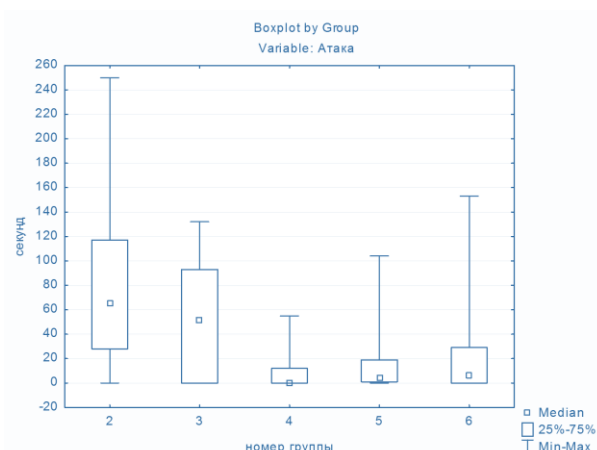


Рис. 4. Длительность атак, сек. (Q₁; Q₃):

* – статистически значимое отличие от контрольной группы (Kruskal-Wallis ANOVA and median test, $p < 0,05$):

- 2 – контрольное вещество (n = 10);
- 3 – «Седатин» в дозе 8 мкг/кг (n = 10);
- 4 – «Седатин» в дозе 25 мкг/кг (n = 10);
- 5 – «Седатин» в дозе 75 мкг/кг (n = 10);
- 6 – Феназепам® в дозе 740 мкг/кг (n = 10)

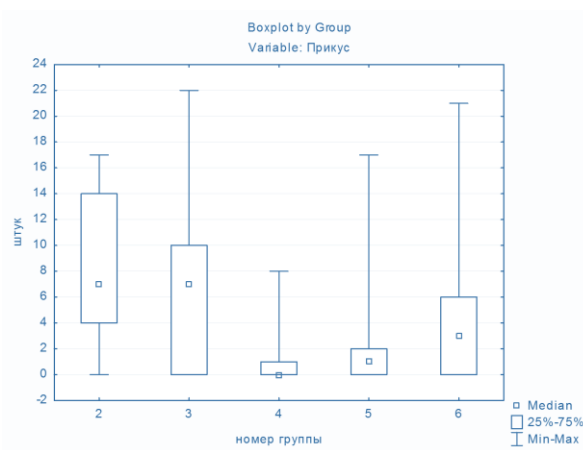


Рис. 5. Количество прикусов, штук (Q₁; Q₃):

- 2 – контрольное вещество (n = 10);
- 3 – «Седатин» в дозе 8 мкг/кг (n = 10);
- 4 – «Седатин» в дозе 25 мкг/кг (n = 10);
- 5 – «Седатин» в дозе 75 мкг/кг (n = 10);
- 6 – Феназепам® в дозе 740 мкг/кг (n = 10)

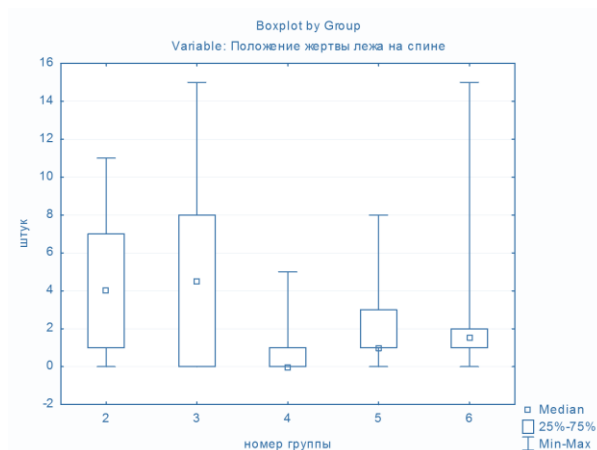


Рис.6. Положение жертвы лежа на спине, количество, штук (Q₁; Q₃):

- 2 – контрольное вещество (n = 10);
 3 – «Седатин» в дозе 8 мкг/кг (n = 10);
 4 – «Седатин» в дозе 25 мкг/кг (n = 10);
 5 – «Седатин» в дозе 75 мкг/кг (n = 10);
 6 – Феназепам® в дозе 740 мкг/кг (n = 10)

Первичные данные не соответствовали закону нормального распределения. При статистической обработке значений показателей экспериментального стресса были выявлены отличия по длительности преследований и атак. Последующее межгрупповое сравнение выявило статистически значимые отличия в продолжительности преследования в группе после введения препарата «Седатин» в терапевтической и максимальной дозах и референтного препарата в терапевтической дозе по сравнению с контрольными животными; отличие продолжительности атак у животных, получавших препарат «Седатин» в терапевтической дозе, по сравнению с контрольными (критерий Краскела-Уоллиса, $p > 0,05$, таблица 5).

Таблица 5 – Результаты статистической обработки показателей экспериментального стресса, критерий Краскела-Уоллиса (Kruskal-Wallis)

Показатель	Значение Н-критерия	p
Исследовательская активность	1,40	0,84
Преследование	22,50	<0,05
Атака	10,10	<0,05
Прикусы	9,20	0,06
Положение жертвы лёжа на спине	6,42	0,17

Итак, по результатам исследования было установлено, что применение тестируемого препарата «Седатин» в дозах 25 и 75 мкг/кг (1 и 3 ТД) оказывает выраженное, равноэффективное с препаратом сравнения Феназепам® анксиолитическое действие, заключающееся в достоверном снижении продолжительности преследований и атак.

Таким образом, тестируемый препарат «Седатин» оказал выраженный анксиолитический эффект.

ИССЛЕДОВАНИЯ СОЧЕТАННОГО ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТОВ «СЕДАТИН» И «КАРПРОФЕН».

В реализацию идеи сочетанного применения НПВП и ОП с целью снижения нежелательных эффектов НПВП, формирования сенергетического противовоспалительного и обезболивающего действия изучаемых препаратов, а также сувокупного снижения общей фармакологической нагрузки на организм пациента были проведены исследования совместного целевого фармакологического действия трансбуккальных пленок «Седатин» и «Карпрофен».

Изучение противовоспалительной активности. Полученные результаты приведены в таблице 6.

Таблица 6 – Исследование противовоспалительного действия

№ п/п	Группы	Прирост объема лапки через 3 часа, мм	Прирост объема лапки через 6 часов, мм	Объем лапки через 24 часа, мм
1.	Контроль (6 крыс)	26,3±0,12 (p < ,001)	25,1±0,08 (p < ,001)	24,3±0,08 (p < ,001)
2.	Гр. 1 – Каррагенин (6 крыс)	37,3±0,12 (p < ,001)	32,2±0,06* (p < ,001)	29,2±0,09 (p < ,001)
3.	Гр. 2 – Карпрофен + Каррагенин (6 крыс)	32,3±0,12 (p < ,001)	28,7±0,11* (p < ,001)	27,5±0,12 (p < ,001)
4.	Гр. 3 – Карпрофен + Седатин+Каррагенин (6 крыс)	30,2±0,12 (p < ,001)	28,1±0,05 (p < ,001)	26,2±0,03* (p < ,001)

Примечание- * – p < 0,001 – относительно контроля

Установлено, что при субплантарном введении 0,1 мл 1%-го водного геля каррагенина подопытным крысам было индуцировано экссудативное воспаление, в следствие которого развился выраженный отек лапы, о чем свидетельствует достоверное увеличение ее объема. Отмечено, что максимальный отёк лапки развивался через 3 часа после введения каррагенина, при этом объем лапы увеличился 41,8% (p<0,05) у контрольной группы, в группе №2 – на 23,0% (p<0,05), в группе №3 – на 15,0% (p<0,05). В рамках проведенного исследования были зафиксированы изменения объема лапы в динамике и через 6 часов были отмечены следующие значения изменения объема лап: у контрольной группы – 28% (p < 0,05), в группе №2 – на 14,3% (p < 0,05) , в группе №3 – на 11,0% (p < 0,05). Следует отметить, что и через 24 часа после введения каррагенина объем лапы у подопытных животных контрольной группы был на 20,1% больше, чем до воздействия флогогенного фактора. Согласно результатам изучения противовоспалительного действия установлено, что комбинация препаратов «Седатин+Карпрофен» оказывает наиболее активное противовоспалительное действие при моделировании экссудативного воспаления у лабораторных крыс и приводило к уменьшению объема лапки у крыс в среднем на 24% (p < 0,001) по сравнению с группой №2 и на 8,1% по сравнению с группой №3 (табл.6).

Установлено, что данная комбинация «Седатин+Карпрофен» проявляет максимальный антиэкссудативный эффект на всем протяжении исследования (3, 6 часов от начала эксперимента, а также через 24 часа после введения Каррагенина). Полученные результаты позволяют рекомендовать исследуемую комбинацию препаратов «Седатин+Карпрофен» для расширенных доклинических испытаний потенциальных лекарственных средств с противовоспалительной активностью.

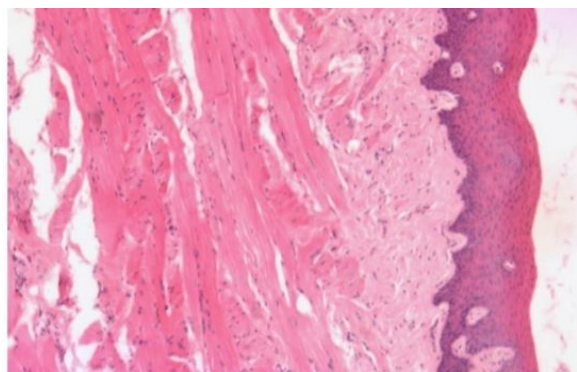
ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРЕПАРАТА «СЕДАТИН».

Проблема, связанная с энзиматической неустойчивостью и, как следствие, низкой биодоступностью ОП в настоящее время успешно решается посредством модификации субстанций и оптимизации лекарственных форм нейротропных пептидов, что способствует разработке и внедрению в практику более эффективных препаратов на основе опиоидных пептидов, в т. ч. в виде трансбуккальных пленок. Однако для решения широкого спектра фармакокинетических задач важно наличие соответствующего аналитического инструментария. Для фармакокинетических исследований препарата «Седатин» до настоящего времени подобного инструментария предложено не было. С помощью предложенного аналитического инструментария была изучена фармакокинетика препарата «Седатин» при однократном и многократном курсовом введении. В исследованиях фармакокинетики препарата «Седатин» при однократном и многократном введении *per os* 100 мкг/кг у мышей кинетика распределения Н³-СЕДАТИН в крови и органах носила трёхфазный характер: отмечали фазы всасывания, распределения и выведения. При пятидневном ежедневном введении препарата происходило накопление Н³-соединений в равной степени во всех изученных органах и тканях. Экскреция Н³-соединений из организма происходила практически в равной степени с мочой и калом, соответственно в среднем на 49% и 43% соответственно. При этом, около 90% от количества введенного препарата выводилось в течение 24 часов от начала введения, а в последующие 2-3 сут. выводилось менее 5% от введённой дозы.

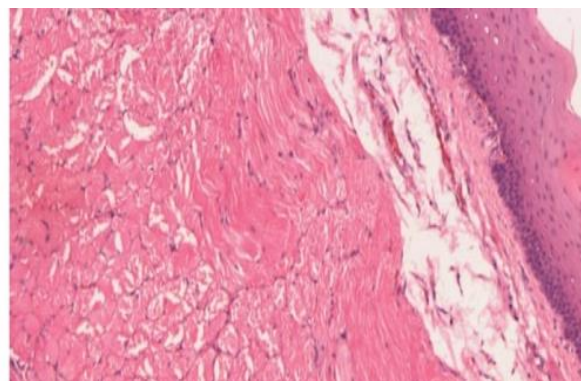
ОЦЕНКА МЕСТНО-РАЗДРАЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА «СЕДАТИН» И ПРЕПАРАТА «КАРПРОФЕН».

При трансбуккальном введении исследуемых препаратов не было зарегистрировано признаков местно-воспалительной реакции слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта (инфильтрация, покраснение), что было подтверждено визуальным и гистологическим исследованием.

Исследование слизистой оболочки ротовой полости- патологических изменений слизистой оболочки (гиперемия, отек, эрозии) не выявлены. Слизистая оболочка, выстилающая полость рта состоит из многослойного плоского эпителия, базальной мембраны, собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистого слоя. У кроликов большая часть слизистой оболочки ротовой полости, покрыта неороговевающим эпителием, в щечной области неороговевающий эпителий сменяется ороговевающим эпителием (рис.7 а, б). Исследование слизистой оболочки пищевода- патологических изменений слизистой оболочки (гиперемия, отек, эрозии) у подопытных животных обеих групп не выявлены. Исследование макроскопической картины пищевода животных опытных групп не выявило патологических изменений.



а)



б)

Рис.7. Слизистая оболочка ротовой полости кролика а) с выраженными листовидными сосочками, без повреждений б) без выраженных сосочков, гиперемии, эрозивно-язвенных поражений не обнаружено x100 окр. Г.-э

Патологических изменений в строении стенки пищевода животных опытных групп не выявлено. Макроскопическая картина после 30-ти дневного курса введения препаратов без изменений. Отек, гиперемия, повреждения слизистой оболочки не обнаружены. В ходе исследования слизистой оболочки желудка патологических изменений в обеих подопытных группах не выявлено.

Исследование слизистой оболочки отделов кишечника- патологических изменений слизистой оболочки (гиперемия, отек, эрозии) не выявлены. Исследование местно-воспалительной реакции после трансбуккального введения препаратов не выявлено. Структурная организация тонкого кишечника не изменена. Подслизистая основа представлена рыхлой волокнистой соединительной тканью, мышечная и серозные оболочки – без изменений (рис.8,9). Микроскопическая картина толстого кишечника без характерных патологических изменений. Патологических проявлений в виде инфильтрации, гиперемии, изъязвления не выявлено.

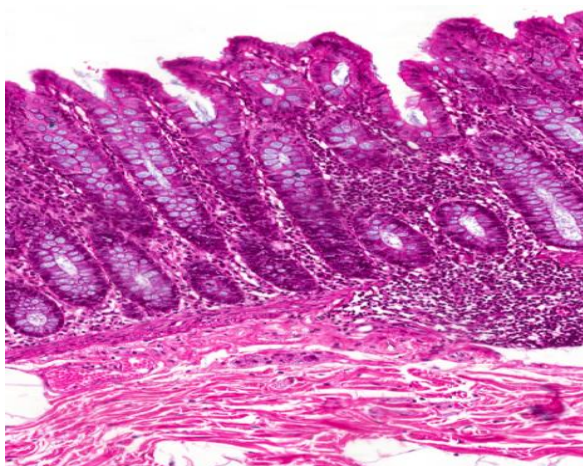


Рис.8. Микроскопическая картина толстого кишечника кролика представлена ворсинками и криптами, выстланными однослойным цилиндрическим каемчатым эпителием с бокаловидными клетками, г.-э., ув.200

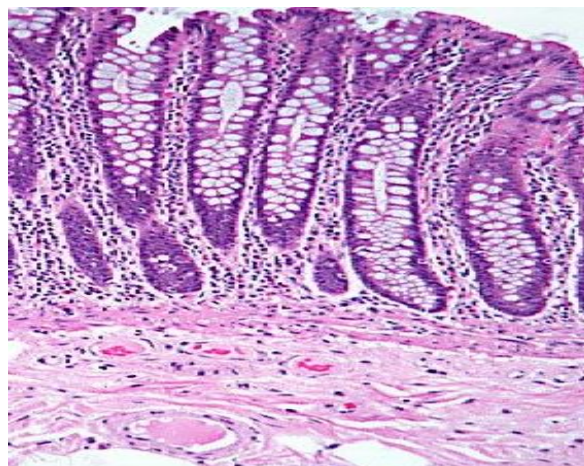


Рис.9. Микроскопическая картина толстого кишечника кролика: ворсинки, крипты, железы подслизистой оболочки, г.-э., ув.200

В опытной группе животных, получавших препарат «Седатин, пленка трансбуккальная» результаты оценки местно-раздражающего действия на слизистую поверхность и мышечную ткань не отличались от группы животных, получавших препарат-сравнения.

Таким образом, по показателям местно-раздражающего действия оба сравниваемых препарата являются практически эквивалентными и нетоксичными.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ НАПРАВЛЕНИЯ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.

В основу проведенных диссертационных исследований легла идея сочетанного применения НПВП и опиодных пептидов для снижения всего пула зарегистрированных нежелательных эффектов НПВП, в усиление общего противовоспалительного и обезболивающего действия препаратов названных фармакологических групп, а также совокупного снижения общей фармакологической нагрузки на макроорганизм. С той же целью снижения фармакологической нагрузки, прежде всего от НПВП, а также с учётом возможности введения в макроорганизм опиодных пептидов, в общей канве исследования в качестве базового, нами был определён трансбуккальный путь. НПВП вызывают выброс опиодных пептидов – эндорфинов из ядер антиноцицептивной системы. Эндорфины тормозят ноцицептивную систему и нарушают проведение болевых импульсов (Климова О.Ю., Бердникова Н.Г. и соавт., 2016; Parada L., Marstein J.P., 2016). НПВП тормозят процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и нарушают процесс генерации свободных радикалов, стабилизируют мембрану лизосом и уменьшают выделение протеолитических ферментов из них в очаг воспаления, что в конечном итоге защищает клеточные структуры от повреждения. Обеспечение анальгезирующего эффекта НПВП также реализуется с помощью нескольких механизмов: НПВП блокируют ЦОГ и нарушают синтез простагландинов (ПГЕ₂ и ПГФ₂) в болевом очаге (периферический анальгетический эффект) (Игнатов Ю.Д., Кукес В.Г., 2010; Bruyère O., Cooper C., 2014;). В отсутствие простагландинов передача болевых импульсов в ядрах таламуса затрудняется (центральный анальгетический механизм). НПВП стимулируют синтез в нейронах кинурениновой кислоты, блокируя рецепторы глутамата- передача болевых импульсов нарушается. Анализ литературы дает возможность оценить воздействие нестероидных противовоспалительных препаратов, опиодных пептидов (Ягников С.А., Барсегян Л.С. и соавт., 2015; Гильдилов Д.И., Лосева Т.В., 2018; H. Al-Waeli, A. P. Reboucas et al., 2021; D. Cervantes-García, A. I. Bahena-Delgado, 2021), но, к сожалению, не позволяет оценить комплексное применение препаратов, сформировать клинические рекомендации по назначению этих препаратов при длительном курсовом применении. Основываясь на многочисленных исследованиях применения пептидных препаратов (Алексеев С.А., Тимошин С.С. и соавт., 2010; Сазонова Е.Н., Самарина Е.Ю. и соавт., 2016; Дейгин В.И., Флейшман М.Ю. и соавт., 2016, 2018, 2019; Колесников А.А., Флейшман М.Ю. и соавт., 2020; Daniel J. Drucker, 2020) выявляют цитопротекторное действие пептида седатина, агониста μ/δ -опиодных рецепторов, на первичную культуру легочных фибробластов белых крыс в условиях окислительного стресса. В

опытах, на фоне индуцируемых НПВП язв и эрозий, имело место более чем двукратное падение концентрации гистамина в тканях желудка (С.С. Тимошин, М.Ю. Флейшман и соавт., 2010). Это свидетельствует в пользу гипотезы о том, что дефицит гистамина является одним из факторов нарушения целостности слизистой оболочки желудка. Предварительное введение седатина привело к нормализации содержания гистамина в тканях желудка. Способность седатина нормализовать содержание гистамина помогает выявить еще один механизм его цитопротективного действия. Результаты анализа цитопротективного влияния седатина на слизистую оболочку желудка при воздействии НПВП позволяют считать, что этот эффект реализуется за счет суммации ряда механизмов: повышения пролиферативного потенциала слизистой оболочки желудка, поддержания концентрации локального митогена — гистамина, минимизации оксидативного стресса, активации нитроксидагических процессов. Все это позволяет считать седатин перспективным препаратом для профилактики НПВП-гастропатий (М.Ю. Флейшман, С.С. Тимошин и соавт., Патент РФ № 2303983 от 10.08.2007). Проведенные сравнительные фармакокинетические исследования на примере Карпрофена наглядно демонстрируют преимущества трансбуккальной формы в сравнении с таблетками. На рисунке 10 видно, что концентрация действующего вещества в начальной точке после применения трансбуккальной пленки Карпрофен в 3,38 раза выше, чем после применения таблетки Норокарп. На кривых, отображающих концентрацию Карпрофена в крови кроликов в зависимости от времени отбора проб видно, что всасывание тест препарата в виде трансбуккальной пленки через слизистую ротовой полости происходит интенсивнее. Максимальная концентрация при даче пленки на 31,9% выше, чем у таблетки и достигается в точке 6 часов после приема препарата, у таблетки этот показатель составляет 4 часа.

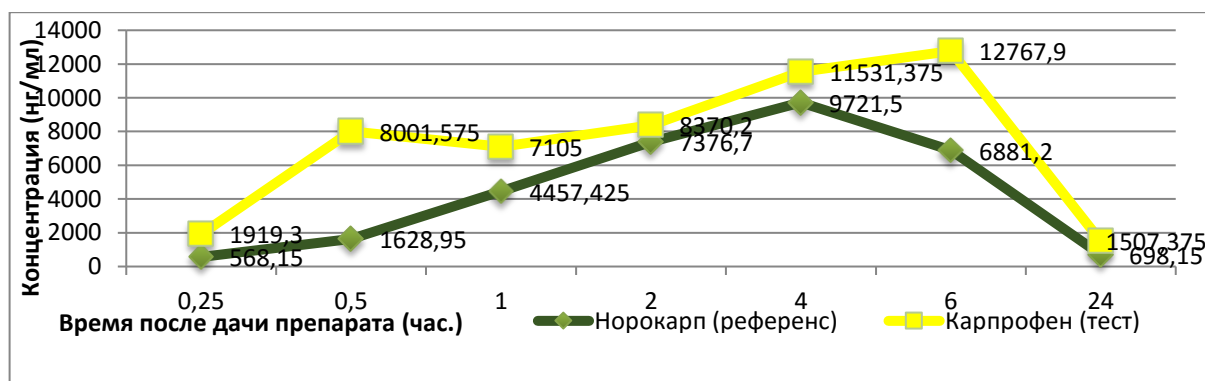


Рис. 10. Средние фармакокинетические профили карпрофена у кроликов после однократного введения Карпрофена (тест) и Норокарпа (референс)

Циклооксигеназа (ЦОГ) — фермент, регулирующий образование простагландинов (ПГ) из арахидоновой кислоты и запускающий каскад воспаления. Именно ЦОГ является основной молекулярной мишенью для НПВП. Данный механизм был открыт Д. Вейном (Климова О.Ю., Бердникова Н.Г. с соавт., 2016), именно антипростагландиновая активность НПВП лежит в основе их противовоспалительного, жаропонижающего и анальгезирующего действия (рис. 11).



Рис. 11 – Визуализация теоретического обоснования направления диссертационного исследования

Существует две основных изоформы ЦОГ: конституциональная, или физиологическая (ЦОГ-1), контролирующая образование гомеостатических ПГ, обладающих цитопротекторным эффектом в отношении слизистой оболочки желудка и регулирующих почечный кровоток, а также тромбксана А₂, влияющего на агрегацию тромбоцитов, и патологическая, или индуцированная (ЦОГ-2), образующаяся преимущественно в очаге воспаления. Положительные терапевтические эффекты НПВП связаны с их способностью ингибировать ЦОГ-2, в то время как наиболее часто встречающиеся побочные эффекты (поражение ЖКТ, почек, нарушение агрегации тромбоцитов) – с подавлением активности ЦОГ-1. Действительно, среди «стандартных» НПВП препараты более селективные в отношении ЦОГ-2, чем ЦОГ-1, реже вызывают осложнения со стороны ЖКТ, чем менее селективные, однако, полностью исключить негативное воздействие не получалось, в связи с чем нами предложено сочетанное клиническое применение.

В основу теоретического обоснования направления диссертационного исследования легла гипотеза о перспективном использовании новой лекарственной формы в виде трансбуккальных пленок, в связи с очевидными преимуществами перед таблетированными и инъекционными формами. Во-первых использование пептидов затруднено в указанных формах в связи с взаимодействием с агрессивной средой желудочно-кишечного тракта (Архинчеева Н.Ц., Бальхаев И.М., 2022), во-вторых, применение в трансбуккальной форме обеспечивает высокую терапевтическую эффективность, простоту, надежность, быстрое всасывание, отсутствие боли, стресса, инфицирования и травмирования мягких тканей при внутривенном и внутримышечном введениях при длительной фиксации и болезненном введении у животных (Обидченко Ю.А., 2016; Карамян А.С., Савочкина А.Ю., 2017) и в-третьих, что является крайне важным – это высокие адгезивные свойства желатиновой основы лекарственной формы, обеспечивающие надежную фиксацию, быстрое всасывание в ротовой полости и контроль дозирования препарата, чего трудно достичь при даче иных пероральных форм у животных, в связи с риском развития рвоты и отсутствия контроля получаемой пациентом дозы препарата (Карамян А.С., 2024).

Сочетанное применение НПВП и опиоидных пептидов в современной трансбуккальной лекарственной форме позволяет купировать каскад воспалительных реакций, болевой синдром, улучшить состояние гемо-лимфо-микроциркуляции, оказывает цитопротективное действие на слизистую оболочку органов желудочно-кишечного тракта, что и послужило теоретической основой диссертационного исследования.

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРЕПАРАТОВ «СЕДАТИН» И «КАРПРОФЕН».

Оценка терапевтической эффективности применения препарата «Седатин».

В результате 5-дневного курсового применения препарата «Седатин» в дозе 100 мкг/кг была отмечена положительная динамика изменений биохимических и гематологических показателей в организме животных (таблица 7).

После применения лекарственного препарата «Седатин» выявляется тенденция к нормализации гематологического профиля животных, однако на фоне проведенной терапии изучаемые показатели не достигают значений контрольной группы, так как для полного восстановления требуется более длительный период.

У собак 3-й группы положительная динамика выражена слабее, вероятно, из-за возрастного снижения регенеративных функций. Для подтверждения положительного терапевтического эффекта препарата «Седатин» был проведен анализ кала на обнаружение скрытой крови по методике Грегерсена (бензидиновая проба). Установлено, что до применения препарата «Седатин» в кале животных была обнаружена скрытая кровь и изменение показателей, свидетельствующих о нарушении процесса пищеварения.

Таблица 7 – Показатели крови собак на 5-е стуки применения препарата «Седатин»

Показатели	ФП	1 группа, 1-3 года (n = 10)	2 группа, 3-6 лет (n = 45)	3 группа, 6-13 лет (n = 16)	Контроль, (n = 10)
RBC, $10^{12}/л$	5,6-8,0	5,4 $\pm$ 0,4	4,9 $\pm$ 0,3*	5,2 $\pm$ 0,2*	6,3 $\pm$ 0,4
HGB, г/л	120-180	105,0 $\pm$ 1,1*	104,0 $\pm$ 1,5*	126,0 $\pm$ 1,8	129,0 $\pm$ 1,1
HCT, %	37-55	32,5 $\pm$ 1,3*	35,1 $\pm$ 2,3*	31,9 $\pm$ 1,6*	44,5 $\pm$ 1,3
MCV, фл	60-75	60,1 $\pm$ 1,1	71,6 $\pm$ 1,4	61,3 $\pm$ 1,2	70,6 $\pm$ 1,2
MCH, пг	21-27	19,4 $\pm$ 1,1	21,2 $\pm$ 1,1	24,2 $\pm$ 1,1*	20,5 $\pm$ 1,1
MCHC, г/дл	33-38	32,3 $\pm$ 1,0	29,6 $\pm$ 0,6*	39,5 $\pm$ 0,3*	28,9 $\pm$ 1,0
RDW, %	11,0-16,0	18,4 $\pm$ 0,3	19,1 $\pm$ 0,5	18,9 $\pm$ 0,2	18,4 $\pm$ 0,2
Нормоциты, %	77,7 $\pm$ 2,2	72,3 $\pm$ 0,4*	71,5 $\pm$ 0,5*	36,0 $\pm$ 0,4*	75,4 $\pm$ 0,4
Микроциты, %	12,8 $\pm$ 0,4	13,5 $\pm$ 1,3*	14,7 $\pm$ 2,1*	12,9 $\pm$ 2,1	13,1 $\pm$ 1,1
Макроциты, %	9,5 $\pm$ 1,3	11,6 $\pm$ 0,7*	13,8 $\pm$ 0,8*	11,9 $\pm$ 0,1*	11,5 $\pm$ 0,3
Дискоциты, %	92,6 $\pm$ 3,3	98,1 $\pm$ 2,1*	97,3 $\pm$ 1,4*	96,9 $\pm$ 1,4*	94,3 $\pm$ 2,1
Шизоциты, %	0	1,3 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,2	1,9 $\pm$ 0,1
Акантоциты, %	0-5	1,5 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,3	1,8 $\pm$ 0,2	3,8 $\pm$ 0,1
СОЭ, мм/ч	0-6	2,1 $\pm$ 0,3	2,1 $\pm$ 0,2	2,0 $\pm$ 0,3	2,0 $\pm$ 0,1
Лейкоциты, $10^9/л$	6-16	11,6 $\pm$ 0,4*	11,9 $\pm$ 0,1*	14,5 $\pm$ 0,6*	8,8 $\pm$ 0,2
Лимфоциты, %	12-30	28,8 $\pm$ 0,3	29,2 $\pm$ 0,4	28,9 $\pm$ 0,3	26,3 $\pm$ 0,4
Палочкоядерные нейтрофилы, %	0-5	6,6 $\pm$ 0,1	6,8 $\pm$ 0,3	7,2 $\pm$ 0,2	7,3 $\pm$ 0,3
Сегментоядерные нейтрофилы, %	55-70	57,8 $\pm$ 0,2	54,1 $\pm$ 0,1	52,1 $\pm$ 0,5	56,3 $\pm$ 0,4
Эозинофилы, %	0-5	5,2 $\pm$ 0,4	7,5 $\pm$ 0,3	7,1 $\pm$ 0,4	6,2 $\pm$ 0,3
Моноциты, %	1-7	1,6 $\pm$ 0,2	3,2 $\pm$ 0,2	4,7 $\pm$ 0,1	3,9 $\pm$ 0,2
Общий белок, г/л	55-75	55,5 $\pm$ 0,2*	63,3 $\pm$ 0,5*	53,5 $\pm$ 0,4*	66,5 $\pm$ 0,3
Глюкоза, ммоль/л	3,4-5,6	5,5 $\pm$ 0,2*	5,3 $\pm$ 0,5	5,5 $\pm$ 0,4*	4,5 $\pm$ 0,3
АлАТ, Ед/л	10-55	18,5 $\pm$ 0,1	20,7 $\pm$ 0,5*	17,9 $\pm$ 0,6	18,5 $\pm$ 0,4
АсАТ, Ед/л	10-55	34,5 $\pm$ 0,1*	33,7 $\pm$ 0,5*	37,9 $\pm$ 0,6*	44,5 $\pm$ 0,3
Общий билирубин, мкмоль/л	0-5,5	15,5 $\pm$ 0,3*	14,5 $\pm$ 0,4*	15,5 $\pm$ 0,4*	5,3 $\pm$ 0,3

Примечание. * – $P < 0,05$ – относительно контроля; ФП – физиологический показатель.

При проведении повторных копрологических исследований у животных 1-й и 2-й группы не выявлены следы крови в каловых массах. У собак 3-й группы положительная реакция Грегерсена свидетельствует о наличии скрытого кровотечения в ЖКТ, что, вероятно, связано с более низкой способностью их организма к восстановлению из-за возраста (таблица 8).

Таблица 8 – Показатели копрологического исследования собак на 5 сутки применения препарата «Седатин»

Показатели	1 группа, 1-3 года (n = 12)	2 группа, 3-6 лет (n = 49)	3 группа, 6-13 лет (n = 10)	ФП	Контроль, (n = 10)
Консистенция/ форма	оформленна я	оформленна я	оформленна я	оформленная	оформленная
pH	5,1±0,4	5,8±0,4	6,5±0,3	5-8	5,0±0,3
Цвет	коричневый	коричневый	коричневый	коричневый	коричневый
Запах	резкий	резкий	резкий	специфически й	специфически й
Скрытая кровь	-	-	+	-	-
Билирубин	-	-	-	-	-
Стеркобилин	+	+	+	+	+
Крахмал	-	-	+	-	-
Слизь	-	-	-	-	-
Мышечные волокна с исчерченность ю	+	+	+	+	+
Мышечные волокна без исчерченности	-	-	-	-	-
Клетчатка переваренная	-	-	-	-	-
Клетчатка непереваренная	-	-	+	-	-
Жир	-	-	+/-	+/-	+/-
Гельминты	нет	нет	нет	нет	нет
Простейшие	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены	не обнару- жены	не обнару- жены

Полученные результаты позволяют рекомендовать препарат «Седатин» в форме быстрорастворимой плёнки для лечения собак с клиническими признаками патологии ЖКТ.

Оценка терапевтической эффективности применения препарата «Карпрофен». Результаты эксперимента представлены в таблице 9. При исследовании животных уровень лейкоцитов был достоверно повышен на 4,54% у 2-ой подопытной группы животных, уровень глюкозы повышен в 1,5 раза, а уровень общего белка был снижен на 4,9% по отношению к контролю у животных, получавших лекарственный препарат «Норокарп», что свидетельствует о развитии стрессовой гипергликемии у собак. Уровень эритроцитов был снижен в обеих экспериментальных группах, на 11% с препаратом «Карпрофен» и 15% с препаратом «Норокарп», а уровень гематокрита снизился на 22,5% у животных группы с препаратом «Норокарп».

**Таблица 9 – Показатели крови собак на 5-е сутки приема препаратов
«Карпрофен» и «Норокарп»**

Показатели	ФП	1 группа (Карпрофен +а/б) (n = 18)	2 группа (Норокарп +а/б) (n = 18)	Контроль (n = 7)
RBC, 10 ¹² /л	5,6-8,0	5,6±0,4*	5,1±0,3*	6,3±0,4
HGB, г/л	120-180	119,0±1,1*	114,0±1,5*	129,0±1,1
HCT, %	37-55	41,9±1,3*	34,5±2,3*	44,5±1,3
MCV, фл	60-75	74,8±1,1	67,6±1,4	70,6±1,2
MCH, пг	21-27	21,2±1,1	22,3±1,1	20,5±1,1
MCHC, г/дл	33-38	28,4±1,0	33,0±0,6	28,9±1,0
RDW, %	11,0-16,0	17,4±0,3	16,3±0,5	18,4±0,2
Нормоциты, %	77,7±2,2	69,3±0,4	61,5±0,5	75,4±0,4
Микроциты, %	12,8±0,4	17,1±1,3	19,4±2,1	13,1±1,1
Макроциты, %	9,5±1,3	13,6±0,7	19,1±0,8	11,5±0,3
Дискоциты, %	92,6±3,3	88,1±0,1	85,7±2,4	94,3±2,1
Шизоциты, %	0	2,3±0,1*	4,7±0,4	0,3±0,1
Акантоциты, %	0-5	9,6±0,1*	9,6±0,4	5,4±0,1
СОЭ, мм/ч	0-6	2,0±0,3	3,0±0,5*	2,0±0,1
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	6-16	8,8±0,4	9,2±0,1	8,8±0,2
Лимфоциты, %	12-30	27,2±0,2	28,6±0,3	26,9±0,4
Палочкоядерные нейтрофилы, %	0-5	8,5±0,1	7,8±0,2	8,6±0,6
Сегментоядерные нейтрофилы, %	55-70	58,3±0,3	55,7±0,1	57,8±0,1
Эозинофилы, %	0-5	4,7±0,4	5,1±0,6	4,3±0,5
Моноциты, %	1-7	1,3±0,5	2,8±0,4	2,4±0,1
Общий белок, г/л	55-75	69,2±1,2*	63,2±1,2*	66,5±0,3
Глюкоза, ммоль/л	3,4-5,6	4,9±0,1	6,7±0,2*	4,5±0,3
АлАТ, Ед/л	10-55	33,5±2,1*	36,6±2,3*	28,5±0,4
АсАТ, Ед/л	10-55	52,2±1,2*	59,6±2,7*	44,5±0,3
Общий билирубин, мкмоль/л	0-5,5	4,5±0,4	5,6±0,4	5,3±0,3

Примечание: * - $p \leq 0,05$; ** - $p < 0,01$ достоверность разницы между показателями животных в различных подопытных группах.

Данные изменения свидетельствуют о признаках легкой анемии на фоне токсического повреждения и развития гастрита. В связи с тем, что при проведении копрологического исследования абсолютно точно утверждать о причинах развития патологии ЖКТ, а также о локализации очага и точной этиологии кровоточивости, при наличии скрытой крови в пробе, не представляется возможным, были проведены также эндоскопические и гистологические исследования (рис. 12-19).

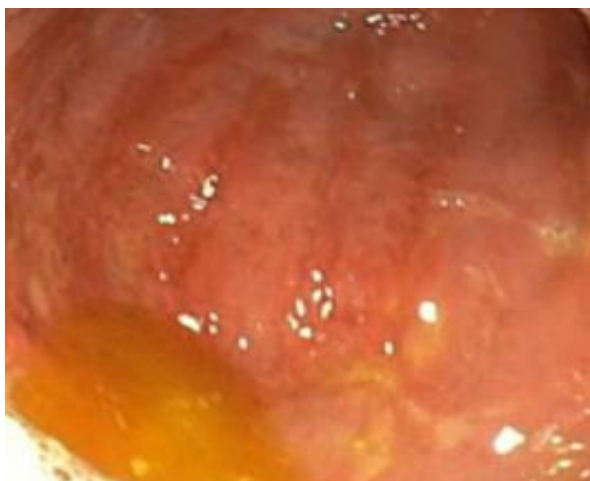


Рис. 12 – Эндоскопическое исследование гастрита у собак-усиление сосудистого рисунка, умеренная отечность и гиперемия, между складками наблюдается скопление слизи.

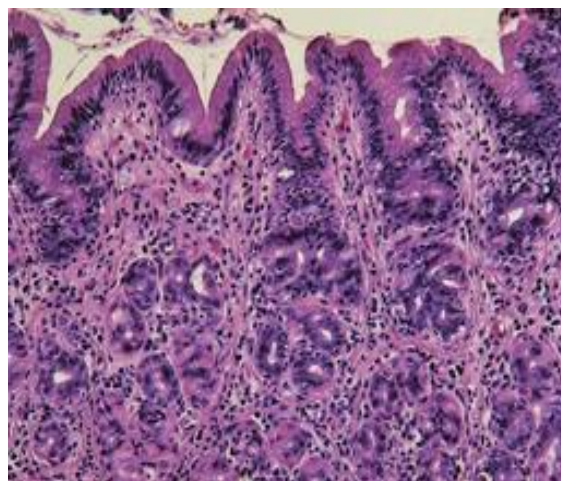


Рис.13. Собака. Гастрит, воспалительный отек, инфильтрация слизистой оболочки желудка клетками крови. Окр.г.-э.ув.100



Рис. 14 – Рефлюксный гастрит у собак 1-ой группы, препарат «Карпрофен», пленка трансбуккальная (макрокартина). Слизистая оболочка гиперемирована, отечна

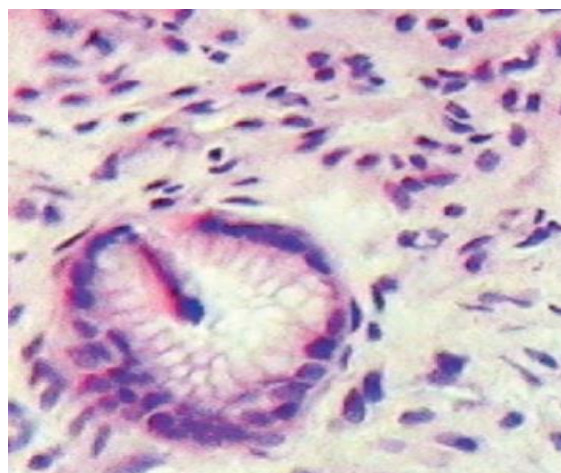


Рис.15.Рефлюксный (хронический гиперпластический) гастрит у собак 1-ой группы, препарат «Карпрофен», пленка трансбуккальная (микрокартина) Окр.г.-э.ув.400



Рис. 16 – Эритематозный гастрит у собак 2-ой группы, препарат «Норакарп», таблетки

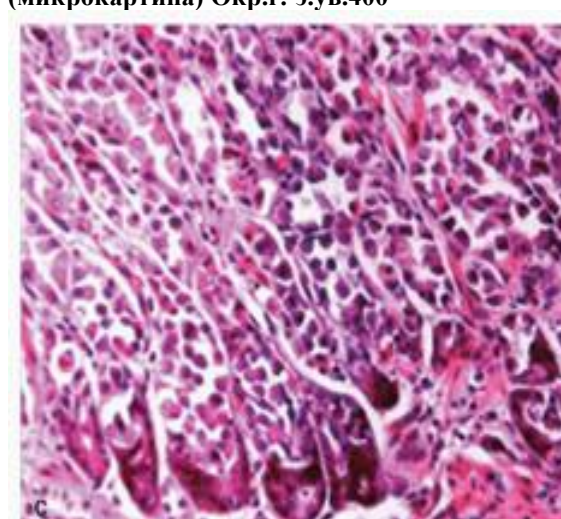


Рис.17. Эритематозный гастрит у собак 2-ой группы, препарат «Норакарп», таблетки, окр. Г.-э., ув. 200



Рис. 18 – Гипертрофический гастриту собак 2-ой группы, препарат «Норакарп», таблетки

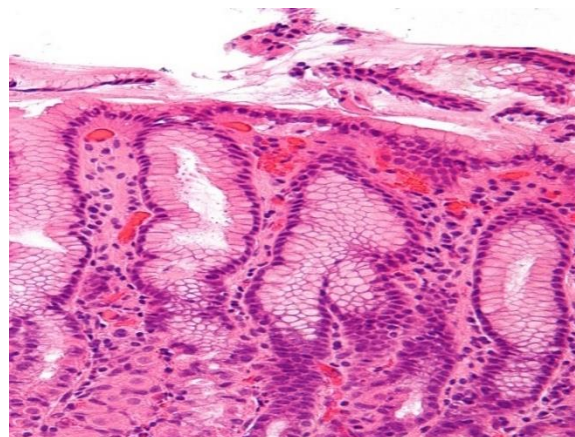


Рис. 19. Гипертрофический гастрит собак 2-ой группы, препарат «Норакарп», таблетки. Окр.г.-э., ув. 100

Исследованием биопроб пациентов с симптомами гастрита установлена картина хронического умеренно выраженного атрофического гастрита, проявляющаяся в истончении слизистой оболочки и снижении количества желез, их деформация – железы вытянуты в длину, уменьшены. Наблюдается очаговое разрастание соединительной ткани и выявление бокаловидных клеток в поверхностном и ямочном эпителии. Наличие воспалительных поражений в теле желудка и в антральной части у всех обследованных собак из 1-ой и 2-ой группы подопытных животных. В слизистой оболочке тела желудка установлена легкая степень поражения у 7 животных (14%), средняя степень поражения в 15 случаях (30%) и тяжелая в 18 случаях (36%). В антральной части поражение слизистой оболочки было обнаружено в двух случаях (4%) легкой степени, в 8 случаях (16%) средней тяжести. Не было обнаружено статистически значимых различий в тяжести воспаления между зоной тела желудка и антральной частью. При проведении инструментального исследования в виде эндоскопической визуализации рефлюксный гастрит (рис. 14, 15) был диагностирован в 23 случаях (46%), эритематозный гастрит (рис. 17) был диагностирован в 11 случаях (22%), а гипертрофический гастрит (рис. 18, 19) был диагностирован в 16-ти случаях (32%). В проведенном исследовании рефлюкс-гастрит был наиболее распространенным воспалением желудка у обследованных собак, у 46% обследованных животных. Воспалительные изменения затронули весь желудок у всех собак, при этом не наблюдали различий в тяжести воспалительных поражений между корпусом желудка и антральной частью. Большинство поражений были средней или тяжелой степени тяжести (86%). В случае хронического атрофически-гиперпластического гастрита выявляется картина изменений слизистой, свойственных как для гипопластического, атрофического, так и для гиперпластического процессов. Гипопластические изменения выявляются очагово, железы на данных участках гиперплазированны, что носит компенсаторный характер. Эпителиальная ткань недифференцирована.

ОЦЕНКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ «КАРПРОФЕН» И «СЕДАТИН».

Было принято решение о разработке клинического протокола сочетанного использования нестероидных противовоспалительных препаратов с препаратом

«Седатин» в современной лекарственной форме – пленка трансбуккальная с целью снижения окислительного стресса и использования цитопротективного действия синтетических олигопептидов. Применение препаратов в разрабатываемой лекарственной форме, также позволяет аккумулировать положительные аспекты данной формы и минимизировать развитие дозозависимого эффекта при токсическом воздействии НПВС на почки, печень, желудок пациентов, а также снизить возможный стресс от фиксации, приема инъекционных форм препаратов (рис.20-23).

Сформировано две группы животных, в терапии которых использовались две клинические схемы: 1-ая группа – собаки в возрасте 3-6 лет с подтвержденными признаками гастрита, у которых применялся «Карпрофен» в форме – пленка трансбуккальная, антибиотики, диета (n = 5); 2-ая группа – собаки в возрасте 3-6 лет с подтвержденными признаками гастрита, у которых применялись комбинация «Карпрофен+Седатин» в форме – пленка трансбуккальная, антибиотики, диета (n = 5); 3-ая группа – контрольная, (n=5). Болевой синдром у собак купировали назначением препарата «Карпрофен» в лекарственной форме «Пленка трансбуккальная», в дозе 4 мг/кг массы тела. Исследование было проведено на животных возрастной группы 3-6 лет, с предварительным рандомным разделением на подгруппы (n=5). Были установлены следующие изменения биохимических показателей крови: снижение АсАТ в 1,32 и 1,08 раза в 1-ой и 2-ой группе соответственно, и АлАТ в 1,32 и 1,66 раза соответственно, повышение уровня общего белка на 6,93% в группе животных, получавших комбинацию «Карпрофен+Седатин» (2-ая группа) в лекарственной форме «Пленка трансбуккальная».

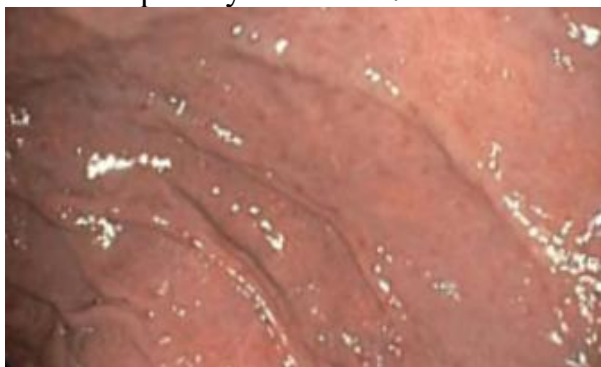


Рис. 20 –Собака. Атрофический гастрит с эрозивным поражением (1-ая группа- Карпрофен), эндоскопия.

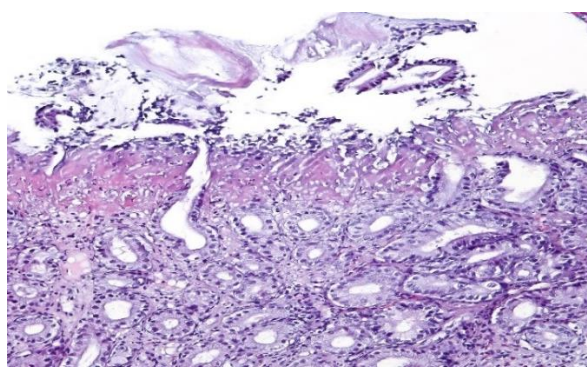


Рис. 21 –Собака. Атрофический гастрит с эрозивным поражением (1-ая группа-Карпрофен), микрокартин: окр. Г.-Э., ув.100



Рис. 22– Собака. Атрофический гастрит с эрозивным поражением (2-ая группа-Карпрофен+Седатин) макрокартина, эндоскопия.

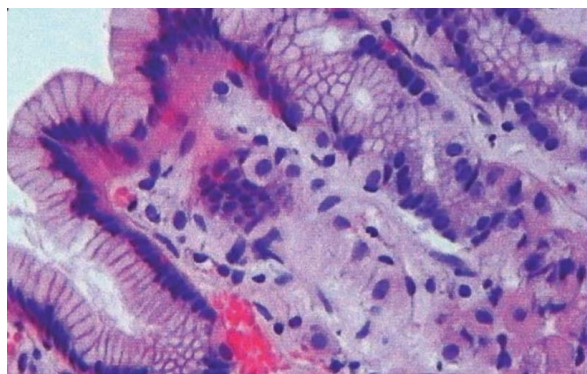


Рис. 23 – Собака.Атрофический гастрит с эрозивным Поражением (2-ая группа-Карпрофен+Седатин) микрокартина, окр. Г.-Э., ув.400

Данные гематологических и биохимических анализов свидетельствуют о менее выраженном цитотоксическом, ульцерогенном действии НПВП на слизистую оболочку органов ЖКТ. В рамках проведенного исследования, наблюдали–снижение уровня эритроцитов на 17,46% в 1-ой группе и на 9,52% во 2-ой группе, что свидетельствует о развитии анемии на фоне нарушения всасывания в кишечнике, воспалительных и эрозивно-язвенных процессов и повышение уровня лейкоцитов в 1-ой группе на 17,04% относительно контроля. Это говорит о нарастающем воспалительном процессе в тканях ЖКТ и снижение уровня лейкоцитов на 6,81% во 2-ой группе у животных, получавших сочетанную терапию с пептидной поддержкой. Для визуальной диагностики поражений и посттерапевтических эффектов была применена эндоскопическая и гистологическая оценка изменения слизистой оболочки и возможные регенеративные процессы (рис. 20-23).

Атрофический гастрит с эрозивным поражением сопровождается изменением морфологической картины: собственная пластина слизистой истонченная, уменьшение числа желез и очаговое разрастание соединительной ткани, петехии и экхимозы, лейкоцитарная инфильтрация, в поверхностном и ямочном эпителии выявлены бокаловидные клетки (рис.21). У собак с эндоскопическими признаками атрофического гастрита выявлена отечность и дистрофия слизистой оболочки желудка, также вакуолизация цитоплазмы покровного эпителия, призматические клетки покровного эпителия уплощены, кубической формы. Архитектоника тканей изменена, границы между клетками покровного эпителия размыты, лейкоцитарная инфильтрация с преимущественным преобладанием сегментоядерных лейкоцитов и нейтрофилов (рис. 23).

В процессе клинических испытаний наблюдалась тенденция в уменьшении нежелательных эффектов в группе животных №2, получавших комбинацию «Карпрофен+Седатин» в лекарственной форме «Пленка трансбуккальная». Проведенные исследования, позволяют рекомендовать сочетанное назначение препарата «Карпрофен» в лекарственной форме «Пленка трансбуккальная» в дозе 4 мг, в дозе 100 мкг/кг собакам, как лекарственную форму, оказывающую менее выраженное побочное действие на организм животных.

ОЦЕНКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ «КАРПРОФЕН» И «СЕДАТИН» У ЛОШАДЕЙ.

Одной из проблем в спортивном коневодстве является повреждение суставов. Патология суставов воспалительного характера - наиболее частый вид поражения у лошадей. Своевременная диагностика и терапия ортопедических заболеваний лошадей является залогом выздоровления и благоприятного прогноза. Лечение заболеваний опорно-двигательного аппарата травматического генеза должно быть направлено на снижение воспалительных процессов, на восстановление структуры и функциональных свойств тканей сустава, коррекцию хромоты. Согласно современной системы оценки интенсивности хромоты выделяют пять разновидностей развития симптома. Американская ассоциация конских ветеринаров- практиков (AAEP- American Association of Equine Practitioners) классифицирует симптом хромоты на I, II, III, IV и V, согласно которой и определяли интенсивность хромоты у лошадей.

Установлено, что в терапии острой боли и хромоты у лошадей показан к применению препарат карпрофен («Римадил» раствор для инъекций), относящийся к фармакологической группе нестероидных противовоспалительных препаратов, в дозе 0.7 мг/кг/в/в в день, курсом не более 7-ми дней, в связи побочным действием НПВП. В связи с чем, нами была разработана схема сочетанного применения препаратов «Карпрофен+Седатин» с целью купирования болевого синдрома, оказания противовоспалительного эффекта НПВП и проявления гастропротекторного действия опиоидного пептида. Объектом исследований являлись 19 лошадей с повреждениями травматического генеза и наличием воспалительного процесса в области суставов (таблица 10).

Таблица 10 – Показатели крови лошадей подопытной группы на 5 – е сутки приема препарата «Римадил Р» таблетки и комбинации «Карпрофен+Седатин», в лекарственной форме «Пленка трансбуккальная»

Показатели	ФП	1-ая группа «Римадил Р», таблетки	2-ая группа «Карпрофен+ Седатин», пленка	3-ая группа «Карпрофен»	Контроль, пленка- плацебо
		n=5	n=5	n=4	n=5
RBC x10 ⁶ /мкл	5-10	5,2±0,4*	6,2±0,2*	5,7±0,3*	6,3±0,3
HGB, г/л	8-15	119±1,1*	129±1,1*	124±1,5*	133±1,3
HCT, %	24-46	33,9±1,3	40,2±1,1	38,5±2,3	44,5±1,3
MCV, фл	40-60	65,2±0,8	64,8±0,1	67,5±1,2	66,1±0,9
MCH, пг	11-17	22,8±0,5	20,8±0,3	21,7±0,1	23,7±0,1
MCHC, г/дл	30-36	35,1±1,3	32,1±0,1	32,2±0,6	33,5±0,2
RDW, %	17,4±0,1	16,4±0,3	17,2±0,2	16,9±0,5	18,4±0,2
СОЭ, мм/ч	0.1-0.6	2±0,3	2±0,5	3±0,1	2±0,1
Лейкоциты	4-12	10,3±0,4**	8,2±0,1**	8,7±0,3**	8,8±0,2
Лимфоциты, %	45-75	82,1±0,3	78,5±0,5	86,2±0,1	2±0,1
Гранулоциты, %	46,3-88,0	8,3±0,3	19,3±0,5	11,1±0,1	2±0,1
Моноциты, %	1-6	9,6±0,3	2,2±0,5	2,7±0,1	2±0,1
Динамика изменений биохимических показателей крови					
Общий белок, г/л	57-79	51,11±0,2*	61,14±0,1*	55,08±0,2*	56,1±0,4
Глюкоза, ммоль/л	3.5-6,3	5,17±0,3	4,12±0,2	5,65±0,3	6,5±0,1
АлАТ, ед/л	2.7-21	59,22±1,1*	41,08±0,3*	57,16±0,4*	23,5±0,4
АсАТ, ед/л	116-287	59,13±1,19	48,16±1,13	48,16±1,13	64,5±0,1
Общий билирубин	5.4-51	54,12±0,2	45,17±0,1	65,11±0,1	65,81±0,3
Гаптоглобин (HP), мг/мл	19-117	478,4±0,9	256,6±1,3	441,2±0,3	545,5±0,1
Сывороточный амилоид А (SAA), мг/л	0,5-20	140,2±0,8	65,11±0,1	151,3±0,1	167,2±0,1

Примечание: * - $p \leq 0,05$; ** - $p < 0,01$ достоверность разницы между показателями животных в различных подопытных группах.

В процессе осмотра, пальпации конечностей, термометрии, функциональных тестов (на сгибание суставов), выявлены такие клинические признаки поражения суставов, как боль при сгибании, разгибании, ротации, хромота. После проведенной диагностики, все животные были разделены на 3 группы животных. В 1-ой группе животным вводился препарат «Римадил Р» (МНН: карпрофен) производства «Zoetis», США в лекарственной форме таблетки 100 мг (в дозе 4мг/кг/день) (n=5), во 2-ой группе (n=5)- животным вводился препарат «Карпрофен» (в дозе 4мг/кг/день) в сочетании с опиоидным пептидом «Седатин» (в дозе 10мкг/кг/день) в лекарственной форме пленка трансбуккальная, 3-ая (n=4)- получавшая препарат «Карпрофен» в лекарственной форме пленка трансбуккальная (в дозе 4мг/кг/день) и 4-ая (n=5)- контрольная группа, получавшая плацебо

Представленные результаты указывают на то, что у животных первой опытной группы в течение первых трех суток наблюдался отек тканей, болезненность в области воспаленного запястного сустава, хромота, усиливающаяся после пробы на сгибание. Снижение явлений отека и болезненности произошло к 13-му дню исследований. Начиная с 25- го дня у всех животных первой опытной группы тест на сгибание был отрицательным, во время движения рысью животные не хромали, болевой синдром отсутствовал. У животных второй опытной группы к 3-му дню исследования наблюдалось уменьшение отека в области пораженного сустава, снизилась болевая чувствительность. К 11-му дню животные данной группы были активны, хромота не наблюдалась, тест на сгибание был отрицательным, животные выглядели клинически здоровыми. У животных третьей группы отек, боль и хромота практически не фиксировались к 13-му дню приема препарата, а у животных контрольной группы отсутствие хромоты наблюдалось даже по прошествии 14-и дней. Наличие воспалительного процесса у животных подопытных групп было подтверждено клинико-биохимическими параметрами крови. Изменение показателей белков острой фазы воспаления (сывороточный амилоид) является достоверным и информативным при развитии воспалительного процесса на фоне стресса, постхирургических вмешательств, вирусных и бактериальных инфекций. В 1-ой группе наблюдали снижение уровня гаптоглобина на 12,4%, во 2-ой группе на 53% и в 3-ей группе на 19,2% по сравнению с контролем. Снижение уровня сывороточного амилоида А (SAA) также свидетельствовало об эффективной терапевтическом воздействии препаратов, наблюдалось достоверное снижение уровня SAA на 16,2% в 1-ой группе, 60,8% во 2-ой группе и 9,6% -в 3-ей относительно контроля.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

В ветеринарной практике, трансбуккальный путь введения лекарственных препаратов является одним из перспективных, а разработанная и предлагаемая нами быстрорастворимая трансбуккальная пленка- инновационным методом. На основании проведенных технологических поисков впервые разработаны экспериментальные образцы трансбуккальной лекарственной пленки, содержащей седатин/карпрофен, оценены фармако-токсикологические свойства синтетического олигопептида Седатин и нестероидного противовоспалительного средства Карпрофен, изучена фармакокинетика препарата Седатин при применении новой лекарственной формы в сыворотке крови методом хромато-масс спектрометрии, нижний предел количественного определения Седатина в сыворотке крови крыс составил 9,6 нг/мл. In

vivo, выявлено прямое цитопротективное действие препарата Седатин, при применении НПВП. Определены положительные аспекты применения данной лекарственной формы в сравнении с традиционными -таблетками и инъекционными препаратами. Профилактическое введение препарата Седатин оказывает выраженное адаптогенное, стресс-корректирующее воздействие, цитопротективное воздействие в дозе 100 мкг/кг.

Итоги выполненного исследования

1. Разработана современная лекарственная форма –пленка трансбуккальная для применения в ветеринарной медицине. При применении у собак наиболее эффективным стало сочетанное применение препаратов, где лекарственная форма, повышенная биодоступность и пептидное гастропротективное действие снижают гастротоксичный эффект, обусловленный ингибированием фермента циклооксигеназы (ЦОГ). Определены показатели биологической безопасности в исследованиях «острой» токсичности быстрорастворимых пленок «Седатин» (препарат отнесен к V классу «Практически нетоксично» по «Классификации степеней токсичности по Hodge и Sterner») и «Карпрофен» (препарат отнесен к III классу «Умереннотоксично» по «Классификации степеней токсичности по Hodge и Sterner», ЛД₅₀ 282 мг/кг.).

2. В субхроническом эксперименте на кроликах препарат «Седатин, быстрорастворимая плёнка» и препарат сравнения «Седатин[®], раствор для интраназального применения, 1 мг/мл» в дозе 0,05 мг/кг не оказывали токсического действия при введении в течение 30 дней исследуемого препарата и препарата сравнения (исследование при многократном введении). В субхроническом эксперименте на кроликах препарат «Карпрофен, плёнка трансбуккальная» и препарат сравнения «Норакарп[®], таблетки для орального применения» в дозе 1,3 мг/кг не оказывали токсического. Доказано, что риск развития гастроэнтеропатии при применении трансбуккальных пленок по сравнению с таблетированной формой снижается на 34,1%.

3. Препарат «Седатин» является слабым, но высокоселективным антагонистом μ -опиатных рецепторов с IC₅₀ 5×10^{-7} М. Анальгетическая активность препарата в дозах 10 и 100 мкг/кг отсутствует, что не предполагает возможность его дальнейшего целевого использования как монопрепарата. Препарат «Седатин» обладает выраженным анксиолитическим действием в дозах 10 и 100 мкг/кг, причём доза 100 мкг/кг более эффективна. Кроме того, при введении препарата «Седатин» в дозе 100 мкг/кг повышается уровень ориентировочно-исследовательской активности. Применение препарата «Седатин» в дозах 25 и 75 мкг/кг (1 и 3 ТД) оказывает выраженное равноэффективное с препаратом сравнения Феназепам[®] анксиолитическое действие. Доказано, что профилактическое введение препарата «Седатин» оказывает выраженное адаптогенное и стресс-корректирующее воздействие, причём в наибольшей степени действие исследуемого препарата проявляется при введении доз 10 и 100 мкг/кг.

4. В тесте оценки фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов показано, что препарат обладает слабо выраженной иммуномодулирующей активностью в тест-системах мышей и крыс. По результатам исследований препарата «Седатин» в дозе 0,2 мг/мл в пробах с перитонеальными макрофагами количество фагоцитирующих клеток увеличилось до 100% по отношению к контролю (97,2 $\pm$ 1,2), а

индекс фагоцитоза повысился до $13,2 \pm 0,8$ по отношению к контролю ($8,26 \pm 1,2$). В присутствии десятикратной дозы препарата «Седатин», 10 мг/мл, фагоцитарное число ($96,8 \pm 1,7$) и индекс фагоцитоза ($70,5 \pm 1,4$) были сопоставимы с контролем.

5. Разработана и валидирована биоаналитическая методика определения Седатина в сыворотке крови кроликов с применением ВЭЖХ-МС-системы. Нижний предел количественного определения Седатина в сыворотке крови крыс составил 9,6 нг/мл. С помощью предложенного аналитического инструментария изучена фармакокинетика препарата «Седатин» при однократном и многократном курсовом введении.

6. При проведении клинических исследований сочетанного использования препаратов «Седатин» и «Карпрофен» установлено, что риск развития гастроэнтеропатии при применении желатиновых пленок Карпрофен по сравнению с таблетированной формой снижается у кроликов на 36,2% в группах, получавших терапевтическую дозу препаратов. Риск развития гастроэнтеропатии при применении желатиновых пленок Карпрофен по сравнению с таблетированной формой снижается на 34,1 % у кроликов в группе получавших терапевтическую дозу препарата. При исследовании сочетанного фармакологического действия препаратов «Седатин» 0,2 мг и «Карпрофен» (в дозе 4 мг/кг массы тела в течение 7-ми дней) установлено, что применение комбинации препаратов «Седатин+Карпрофен» показывает максимальную противовоспалительную активность у собак, получавших сочетанную терапию с пептидной поддержкой, в виде снижения уровня лейкоцитов и регистрации эрозивно-язвенных поражений в 2,5 раза. Были установлены изменения в виде повышения уровня общего белка на 6,93 % в группе животных, получавших препарат «Карпрофен+Седатин» (2-ая группа) в лекарственной форме пленка трансбуккальная. В рамках проведенного исследования, установлено достоверное снижение уровня эритроцитов на 17,46% ($p < 0,05$) в 1-ой группе («Карпрофен») и на 9,52% во 2-ой группе («Карпрофен+Седатин»), что свидетельствует о развитии анемии на фоне нарушения всасывания в кишечнике, воспалительных и эрозивно-язвенных процессов и повышение уровня лейкоцитов в 1-ой группе на 17,04% относительно контроля, что говорит о воспалительном процессе в тканях ЖКТ и снижение уровня лейкоцитов на 6,81% во 2-ой группе у животных, получавших сочетанную терапию с пептидной поддержкой.

7. В сравнительных клинических исследованиях по оценке монотерапии («Карпрофен», «Римадил Р» (МНН: карпрофен) в дозе 0.7 мг/кг и сочетанного применения с опиоидным пептидом «Седатин» (в дозе 10 мкг/кг) в терапии острой боли и хромоты у лошадей установлено снижение уровня лейкоцитов на 25,6% в группе с сочетанным применением по сравнению с животными, получавшими «Римадил Р» и на 6% по сравнению с группой принимавшей монопрепарат «Карпрофен». Снижение уровня сывороточного амилоида А (SAA) у лошадей, как показатель эффективного терапевтического и противовоспалительного действия препаратов, наблюдалось достоверное снижение уровня сывороточного амилоида А (SAA) на 16,2% в 1-ой группе, 60,8% во 2-ой группе и 9,6% - в 3-ей относительно контроля.

8. Эндоскопические исследования и проведенное исследование биоптатов позволило диагностировать состояние, характеризующееся изменением морфологической картины-истончением собственной пластины слизистой оболочки желудка; уменьшением и деформацией желез; очаговым разрастанием

соединительной ткани; наличием петехий и экхимозов, лейкоцитарной инфильтрации; в поверхностном и ямочном эпителии выявлены бокаловидные клетки, что свидетельствует о развитии атрофического гастрита с эрозивным поражением

На основании проведенных исследований следует рекомендовать использование предложенной схемы сочетанного применения препаратов «Карпрофен+Седатин» в лекарственной форме пленка трансбуккальная для применения у лошадей при купировании болевого синдрома и хромоты.

РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Применение препарата «Седатин» (быстрорастворимая пленка) в дозе 100 мкг/кг оказывает положительное влияние на гематологический и биохимический статус животных, что подтверждается современными методами исследований.

1. Применение препарата «Седатин» в форме желатиновой пленки является перспективным с точки зрения коррекции тревожных состояний, стресса и повышения адаптационных способностей организма животных.

2. Препарат «Карпрофен» в лекарственной форме пленка трансбуккальная в дозе 4 мг/кг при одинаковой терапевтической эффективности оказывает менее выраженное побочное действие на организм собак по сравнению с таблетками.

3. Желатиновые пленки «Карпрофен» рекомендуются к применению у домашних животных для терапии заболеваний опорно-двигательного аппарата, сопровождающихся воспалительным процессом (артрит, артроз, дископатия), а также для купирования болевого симптома (травмы, ушибы, переломы) и в послеоперационный период.

4. Результаты полученных исследований могут быть использованы при проведении научных исследований, в учебном процессе при подготовке студентов по специальности «Ветеринария», повышении их квалификации по диагностике и терапии животных с патологиями желудочно-кишечного тракта, а также при составлении учебных и справочных пособий, методических рекомендаций и монографий по ветеринарной гастроэнтерологии.

5. Методические рекомендации «Применение пленок на желатиновой основе в практике ветеринарной медицины», «Клиническая диагностика заболеваний органов желудочно-кишечного тракта животных», «Технология изготовления и метод применения быстрорастворимых пленок в практике ветеринарной медицины», «Лабораторное исследование фекалий животных», разработана современная цифровая образовательная программа (MOOC- Massive Open Online Courses) на электронной платформе «Modern therapeutic forms in veterinary medicine» («Современные лекарственные формы в ветеринарной медицине» <https://stepik.org/course/88414>)

6. Внедрение научных разработок в учебный процесс образовательных учреждений высшего образования по направлению подготовки специальности 36.06.01. Ветеринария и направлений 06.03.01 «Биология» и «Биомедицина».

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, В КОТОРЫХ ОПУБЛИКОВАНЫ ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах перечня РУДН:

1. **Карамян А.С.** Современные неинвазивные терапевтические системы/ А.С. Карамян, Ю.А. Обидченко // Ветеринарная практика.-2013.-№ 1.-С.44-47
2. **Карамян, А.С.** НПВП-индуцированные гастроэнтеропатии / А.С. Карамян, А.Ю. Савочкина, Ю.А. Ватников // Международный научно-исследовательский журнал. - 2016. - №11. - С.24-27.
3. **Карамян, А.С.** Клиническая оценка влияния лекарственных форм карпрофена на желудочно-кишечный тракт мелких домашних животных/ А.С. Карамян, А.Ю. Савочкина // Международный научно-исследовательский журнал. - 2018. - №12 (66), Часть 4. - С. 76-79.
4. **Карамян, А.С.** Сравнительный анализ общетоксического действия препарата «Седатин, быстрорастворимая пленка, 0,2 мг / А.С. Карамян, Ю.А. Ватников, Е.В. Куликов., Е.А. Зуев // Вестник КрасГАУ.-2019. -№5 (146). - С. 113-121.
5. **Карамян, А.С.** Экспериментальная активность анксиолитического действия Седатина в лекарственной форме трансбуккальной пленки / А.С. Карамян, С.В. Шабунин, Ю.А. Ватников // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2019. - №4. - С. 103-107.
6. **Карамян, А.С.** Оценка биодоступности препарата «Седатин» при трансбуккальном введении методом хромато-масс-спектрометрии / А.С. Карамян // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. - 2019. - №9. - С. 97-106.
7. **Карамян, А.С.** Распознавание боли и стресса у лабораторных животных/ А.С. Карамян // Международный научно-исследовательский журнал. - 2022. - №3. - С. 76-79.
8. **Карамян, А.С.** Патогенетические факторы, ассоциирующиеся с формированием острого абдоминального болевого синдрома собак при гастроэнтерите / А.С. Карамян, Э.А. Куприна, В.И. Луцай, В.И. Кузнецов, В.И. Семёнова// Вестник РУДН. Серия: Агрономия и животноводство .-2023.-С.418-427
9. **Карамян, А.С.** Оценка терапевтической эффективности сочетанного применения препаратов «Карпрофен» и «Седатин» в ветеринарной медицине/ А.С. Карамян, М.В. Самойлова, Ж. Баннуд, Т.В. Чубенко// Ветеринария, зоотехния и биотехнология.-2023.-С. 38-44
10. **Карамян, А.С.** Сравнительная оценка гастротоксичности лекарственного препарата «Карпрофен» и «Норакарп»/ А.С. Карамян, С.В. Шабунин, Ю.А. Ватников// Ветеринария.-2024.-С. 55-58
11. **Карамян, А.С.** Клинико-фармакологическая эффективность сочетанного применения препаратов «Карпрофен» и «Седатин» у лошадей/ А.С. Карамян, С.Г. Друковский// Ветеринария, зоотехния и биотехнология.-2023.-С.
12. **Карамян, АС** Морфологическая картина при оценке местно-раздражающего действия перорального введения лекарственных препаратов/ А.С. Карамян// Ветеринарный фармакологический вестник.-2024.- С.
13. **Карамян, А.С.** Трансбуккальные пленки в ветеринарной медицине: сравнительное исследование влияния лекарственных форм на клинико-биохимические показатели крови/А.С. Карамян, Ж. Баннуд // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. 2024. Т. 19. № 3. С. 530—537.
doi: 10.22363/2312-797X-2024-19-3-000-000

14. **Карамян, А.С.** Трансбуккальный путь введения в ветеринарной медицине: особенности и перспективы/ А.С. Карамян// Аграрный вестник Северного Кавказа.-2024.-№4.-С. 9-12

Объекты интеллектуальной собственности, полученные в ходе выполнения диссертационного исследования

1. «Быстро растворяющаяся трансбуккальная плёнка для лечения депрессивных расстройств, тревоги и расстройств адаптации», патент №2622018 (РФ; Изобретение, 2017 г.),
2. «Устройство для фиксации мелких грызунов», патент № 218414 (РФ; Полезная модель, 2023 г.).

Научные работы, опубликованные в региональных изданиях, материалах симпозиумов и конференций

1. **Карамян, А.С.** Инновационные формы лекарственных средств для животных/ А.С. Карамян // Материалы IV съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Актуальные вопросы ветеринарии, фармакологии, токсикологии и фармации». - 2013. - С. 301-303.

2. **Карамян, А.С.** Современные малоинвазивные методы введения нестероидных противовоспалительных препаратов / А.С. Карамян // Материалы МНПК «Теоретические и прикладные проблемы современной науки и образования». -2013. - С. 94-96.

3. **Карамян, А.С.** Современные НПВП для купирования болевого синдрома у животных / А.С. Карамян, А.Ю. Савочкина // Материалы МНПК «Теоретические и прикладные проблемы современной науки и образования». - 2015. - С. 93-98.

4. Горяинов, С.В. «ПРО - и противовоспалительные биомаркеры, ассоциированные с каррагинан-индуцированным отеком»/ С.В. Горяинов, Е.С. Степанова, **А.С. Карамян** [и др.] // XI Международная конференция и выставка «Метабономика и системная биология». - Япония, Токио. - 17-19 мая 2018 года.

5. **Карамян, А.С.** Альтернативные методы проведения биомедицинских исследований / А. С. Карамян, Н.П. Сачивкина, И.В. Бондарева [и др.] // Гармонизация подходов к фармацевтической разработке. Сборник тезисов Международной научно-практической конференции. Российский университет дружбы народов. - 2018. - С. 90-92.

6. **Карамян, А.С.** Оценка лекарственного препарата карпрофен, пленка суббуккальная и норакарп таблетки, покрытые оболочкой / А.С. Карамян, А.Ю. Савочкина, Н.П. Сачивкина // Сборник трудов VIII МНПК по клинической ветеринарии в формате Purina Partners. - 2018. - С. 25.

7. **Карамян, А.С.** Обоснование применения современных лекарственных форм в терапии домашних животных / А.С. Карамян, Ю.А. Ватников, Л.И. Чумакова // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии. Сборник научных трудов Международной учебно-методической и научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня основания ФГБОУ ВО МГАВМиБ - МВА имени К.И. Скрябина. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная

академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина». - 2019. - С. 124-126.

8. **Карамян, А.С.** Роль фармацевтической разработки в регистрации ЛС / А.С. Карамян, Л.И. Чумакова // Гармонизация подходов к фармацевтической разработке. Сборник тезисов II Международной научно-практической конференции. - 2019. - С. 276-279.

9. **Karamyan, A.S.** Minimizing stress in laboratory animals / A. Karamyan, V. Levitskaya // Innovative in Agriculture. Collection papers of the XI international scientific and practical conference. - 2019. - P. 246-248.

10. **Карамян, А.С.** Доклинические исследования лекарственных средств / А.С. Карамян, Л.И. Чумакова // Гармонизация подходов к фармацевтической разработке. Сборник тезисов II Международной научно-практической конференции. - 2019. - С. 279-282.

11. **Карамян, А.С.** Сравнительное исследование биодоступности НПВС-препаратов у собак/ А.С. Карамян, Ю.А. Ватников, Ж. Баннуд //МНПК III Гармонизация подходов к фармацевтической разработке. Сборник тезисов. - Российский университет дружбы народов. – Москва. - 2020. - С. 185-188.

12. **Карамян А.С.** Болевой синдром в этике биомедицинских экспериментов/Ж. Баннуд, К.С. Овасапян, А.С. Карамян//МНПК XIII Инновационные процессы в сельском хозяйстве. Сборник тезисов. - Российский университет дружбы народов. – Москва. - 2021. - С. 86-88.

13. **Карамян А.С.** "Технологические аспекты и метод применения быстрорастворимых пленок в практике ветеринарной медицины /А.С. Карамян// VI НПК «Международная интеграция в сфере химической и фармацевтической промышленности» Российский университет дружбы народов.- Москва- 2022.- пленарный доклад

14. **Карамян А.С.** «Принципы и критерии планирования современных научных исследований"/А.С. Карамян // XIV МНПК молодых ученых «Инновационные процессы в сельском хозяйстве» - Российский университет дружбы народов.- Москва- 2022.- пленарный доклад

15. **Карамян А.С.** «Анализ рынка ветеринарных препаратов в условиях новых экономических реалий" / А.С. Карамян // XV МНПК молодых ученых «Инновационные процессы в сельском хозяйстве» - Российский университет дружбы народов.- Москва- 2023.- пленарный доклад

16. **Карамян А.С.** «Клинико-фармакологическая эффективность сочетанного применения препаратов «Карпрофен» и «Седатин» у лошадей / А.С. Карамян // XVI МНПК молодых ученых «Инновационные процессы в сельском хозяйстве» - Российский университет дружбы народов.- Москва- 2023.- пленарный доклад

Методические рекомендации

1. **Карамян А.С.** Технология изготовления и метод применения быстрорастворимых пленок в практике ветеринарной медицины / С.В. Шабунин, А.С. Карамян, Л.В. Ческидова, Г.А. Востроилова, Ю.А. Ватников, С.Ж. Лазар, Н.П. Сачивкина (утвержденные и рекомендованные к печати секцией зоотехнии и ветеринарии отделения сельскохозяйственных наук РАН).- М.: 2021 .- 26 с.

2. **Карамян А.С.** Применение пленок на желатиновой основе в практике ветеринарной медицины / **А.С. Карамян, А.Ю. Савочкина** // Методические рекомендации. РУДН, 2017. - 18 с.

3. **Карамян А.С.** Лабораторное исследование фекалий животных / **Ю.А. Ватников, А.С. Карамян** // Методические рекомендации. –РУДН, 2013. - 20 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АОС-антиокислительная система

АФК-активные формы кислорода

ВП – ветеринарный препарат

ЖКТ-желудочно-кишечный тракт

ЛФ- лекарственная форма

ЛП- лекарственный препарат

НПВП-нестероидные противовоспалительные препараты

ОП-опиоидные пептиды

ПОЛ- перекисное окисление липидов

ЦОГ (ЦОГ-1, ЦОГ-2)-циклооксигеназа

МООС (Massive Open Online Course)- массовый открытый онлайн курс

Карамян Арфеня Семеновна (Россия)

ТРАНСБУККАЛЬНЫЙ ПУТЬ ВВЕДЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В ТЕРАПИИ ЖИВОТНЫХ

Лекарственные средства с модифицированным высвобождением, такие как быстрорастворимые пленки, обеспечивают высокую эффективность, простоту и надежность применения данной формы у домашних животных. Риск развития гастроэнтеропатии при применении желатиновых пленок Карпрофен по сравнению с таблетированной формой снижается на 34,1% у кроликов в группе получавших терапевтическую дозу препарата. При повторно проведенных исследованиях после применения лекарственного препарата «Седатин» выявляется тенденция к нормализации уровня гемоглобина и гематокрита. Показатели повышаются в 1,8 и 1,3 раза. Снижение СОЭ свидетельствует о тенденции к стабилизации состояния животных, восстановлении функции эритроцитов. Результаты проведенных биохимических и гематологических исследований, до применения препарата «Седатин» и после 5-ти дневного курса назначения в дозе 100 мкг/кг, показали положительную динамику в изменении развившейся на фоне острого гастрита гипопроотеинемии, гипергликемии, эозинофилии. Было доказано протективное действие аналога олигопептида седатина на индуцируемое НПВП-препаратами повреждение слизистой оболочки желудка при инъекционном применении. При трансбуккальном введении исследуемого препарата «Карпрофен» не было зарегистрировано признаков местно-воспалительной реакции слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта (инфильтрация, покраснение), что было подтверждено визуальным и гистологическим исследованием. *Исследование слизистой оболочки ротовой полости*- патологических изменений слизистой оболочки (гиперемия, отек,

эрозии) не выявлены. Были установлены следующие изменения в виде снижения гепатотоксического эффекта, которое проявлялось снижением АсАТ в 1,32 и 1,08 раза в 1-ой и 2-ой группе соответственно и АлАТ в 1,32 и 1,66 раза соответственно, повышение уровня общего белка на 6,93 % в группе животных, получавших препарат «Карпрофен+Седатин» в лекарственной форме пленка трансбуккальная. Выявлено достоверное снижение уровня сывороточного амилоида А (SAA) на 16,2% в 1-ой группе, 60,8% во 2-ой группе и 9,6% - в 3-ей относительно контроля.

Karamyan Arfenya Semyonovna (Russia)

TRANSBUCCAL ROUTE OF DRUG ADMINISTRATION IN ANIMAL THERAPY

Modified release formulations, such as dissolving films, provide high efficacy, ease and reliability of this formulation in pets. The risk of developing gastroenteropathy when using Carprofen gelatin films compared to the tablet form is reduced by 34.1% in rabbits in the group receiving a therapeutic dose of the drug. Repeated studies after using the drug "Sedatin" revealed a tendency towards normalization of hemoglobin and hematocrit levels. The indicators increase by 1.8 and 1.3 times. A decrease in ESR indicates a tendency to stabilize the condition of animals and restore the function of erythrocytes. The results of biochemical and hematological studies, before using the drug "Sedatin" and after a 5-day course of administration at a dose of 100 mcg/kg, showed positive dynamics in changing the hypoproteinemia, hyperglycemia, and eosinophilia that developed against the background of acute gastritis. The protective effect of the oligopeptide analogue sedatine on damage to the gastric mucosa induced by NSAIDs when administered by injection has been proven. With buccal administration of the study drug "Carprofen", no signs of a local inflammatory reaction of the gastrointestinal mucosa (infiltration, redness) were recorded, which was confirmed by visual and histological examination. A study of the oral mucosa revealed no pathological changes in the mucous membrane (hyperemia, edema, erosion). The following changes were established in the form of a decrease in the hepatotoxic effect, which was manifested by a decrease in AST by 1.32 and 1.08 times in the 1st and 2nd groups, respectively, and ALT by 1.32 and 1.66 times, respectively, an increase in the level of total protein by 6.93% in the group of animals receiving the drug "Carprofen + Sedatin" in the dosage form of the buccal film. There was a significant decrease in serum amyloid A (SAA) levels by 16.2% in group 1, 60.8% in group 2 and 9.6% in the 3rd hotel group.