

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202092145** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2021.02.11

(51) Int. Cl. *A61K 31/137* (2006.01)
A61K 31/167 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.05.03

(54) **КОМПОЗИЦИЯ ПАРАЦЕТАМОЛА: АМИТРИПТИЛИНА С ФИКСИРОВАННОЙ ДОЗОЙ И СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ СМЕШАННОЙ РАКОВОЙ БОЛИ**

(31) 2018-0037

(32) 2018.05.03

(33) CU

(86) PCT/CU2019/050002

(87) WO 2019/210889 2019.11.07

(71) Заявитель:

**СЕНТРО ДЕ ИНВЕСТИГАСИОН
И ДЕСАРРОЛЛО ДЕ
МЕДИКАМЕНТОС СИДЕМ (CU)**

(72) Изобретатель:

**Гарридо Суарез Барбара Беатриз,
Беллма Менендез Аддис, Гонзалез
Цортезон Аниа, Де Ла Паз Мартин-
Виана Нили, Барзага Фернандез
Педро Гилберто, Пердомо Моралес
Роландо, Падрон Иакуис Аляендро
Саул (CU)**

(74) Представитель:

Рыбина Н.А. (RU)

(57) В настоящем изобретении описана фармацевтическая композиция с фиксированной дозой парацетамола и, в частности, amitriptyline, которая основана на исследованиях фармакологического взаимодействия и безопасности, которые демонстрируют ее синергию для эффектов против аллодинии и механической гиперноцицепции, а также для уменьшения постоянной боли, пропорции; безопасность и нейропротекторную способность. Оно направлено на лечение смешанной боли, вызванной раком, которое может быть включено в качестве еще одной опции в стратегию Схемы ступенчатого обезболивания ВОЗ на этапе 1 для лечения слабой боли. Однако оно также может быть включено в последующие этапы, связанные с применением опиоидов для лечения боли более высокой интенсивности, и потенциально снижать дозы и побочные эффекты, такие как толерантность и гипералгезия.

A1

202092145

202092145

A1

КОМПОЗИЦИЯ ПАРАЦЕТАМОЛА: АМИТРИПТИЛИНА С ФИКСИРОВАННОЙ ДОЗОЙ И СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ СМЕШАННОЙ РАКОВОЙ БОЛИ

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Несмотря на значительные продвижения в области знаний о раке и рост выживаемости пациентов, которых он затронул, его распространение и смертность продолжают расти по всему миру. За 2008 год было сообщено о 12,7 миллионах новых случаев при общем числе летальных исходов от рака 7,6 миллионов по всему миру, и, согласно прогнозам, это число удвоится к 2030 году, насчитывая 21,4 миллионов новых случаев и 13,2 миллионов летальных исходов. Вне зависимости от разработок, достигнутых в отношении видов терапии, направленных на опухоль и применение анальгетических средств, в целом 70% больных раком пациентов страдают от боли, 48% на ранних стадиях и от 64 до 75% - на поздних стадиях. Показатель его распространения варьируется в зависимости от местоположения, при опухолях головы и шеи он очень высок - 70%, легких и бронх - 55%, молочной железы - 54%, гинекологическом раке - 60%, уrogenитальном раке - 52%, желудочно-кишечного тракта - 59%. Кроме того, боль от рака может быть прямым образом связана с первичной и/или метастатической опухолью, которая инфильтруется и сжимает висцеральные, соматические и нервные структуры, но также и со способом терапии, который представляет собой хирургическое вмешательство, лучевую терапию или химиотерапию. Химиотерапия представляет собой один из наиболее часто используемых способов, и в целом выделяют 3 болевых синдрома, связанных с лечением рака химиотерапией: Артралгия, индуцируемая ингибиторами ароматазы, с показателем распространения 23-47%, мукозит слизистой оболочки полости рта, индуцируемый антимиетаболитами, антимиототическими средствами, ДНК-интерактивами, а также лучевой терапией, с показателем распространения 5-40%, однако наиболее сложной является болезненная периферическая нейропатия, индуцированная химиотерапией (CIPN). Эта форма включает в себя поражение нейронов, при котором имеют место изменения биоэнергетики митохондрий, глутаматергическая дисфункция и нейровоспаление. CIPN представлена в качестве побочного эффекта от 6 основных средств, применяемых при терапии рака, ограничивая количество сеансов, которые получает пациент, а также его шансы на выздоровление. Ее распространение варьируется в зависимости от средства: классические алкалоиды барвинка (25-65%), таксаны (7-50%),

производные платины (10-50%), талидомид (9-41%) и новые средства, эпотилоны (6-71%) и бортезомид (~ 50%). Следовательно, раковая боль может быть рассмотрена в качестве смешанной, при которой имеют место воспалительные, нейропатические и ишемические механизмы, которые оказывают воздействие более чем на одной место, так что она не может быть описана, как строго соматического, висцерального или нейропатического типа (*Bray, E. et al. al., 2012. Lancet Oncol, 13: 790-801, Breivik, H. et al, 2009. Ann, Oncol 20: 1420-33, Hershman, DL et al, 2014. J. Clin. Oncol. 32: 1941- 67; Cata, JP et al., 2010. In: Paice, JA, Bell, RF, Kalso, EA, Soyannwo, OA editors, Cancer pain from molecules to suffering, Seattle: IASP Press, p.3-21*). Следовательно, антидепрессивные и противоэпилептические средства предлагают выгоду для трети пациентов и применяются в качестве адъювантов в комбинации с нестероидными противовоспалительными анальгезирующими средствами (НПВАС) и опиоидами, включенными в свой собственный динамический замысел Схемы ступенчатого обезболивания Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ, Схема ступенчатого обезболивания). К сожалению, на Кубе отсутствуют системные эпидемиологические исследования боли, однако региональные и больничные исследования, которые демонстрируют похожие результаты, экстраполируются на ситуацию на национальном уровне, что позволяет признать раковую боль проблемой для здоровья не только ввиду высокого показателя ее распространения, но также ввиду частичной неэффективности доступных видов терапии. В настоящее время существует семь подходов для ее внутреннего контроля: учебные вмешательства для обеспечения разъяснений, повышение болевого порога (с помощью социальной поддержки, активности, повышения настроения, качества сна), изменение патологического процесса (химиотерапии, лучевой терапии, гормональной терапии, хирургических ортопедических процедур), изменение восприятия боли (фармакологическое и нефармакологическое), прерывание болевых путей (анестетические блоки, химическая или физическая нейроабляция, спинальная аналгезия и хирургические методы), а также физиологическое вмешательство. Схема ступенчатого обезболивания ВОЗ представляет собой нежесткую модель лечения боли, вызванной раком, которая состоит из 3 этапов, ее динамика заранее предполагает активное и индивидуальное движение, начиная с этапа 1 - для лечения слабой боли (неопиоидными анальгетическими средствами, такими как парацетамол или НПВАС), переходя к этапу 2 - для лечения от слабой до средней боли (слабыми опиоидами, такими как кодеин или декстропропксифен) и этапу 3 - для лечения от средней до острой боли (сильными опиоидами, такими как морфин). Рекомендуемым путем введения является пероральный и по часам. Однако адъювантные лекарственные средства, такие как антидепрессанты и антиконвульсанты, включены во все уровни,

стратегия, которая отвечает знаниям о том, что 20% раковой боли отвечает первичным нейропатическим механизмам, и что в более чем 40% боль является болью смешанного типа, который их включает. Другая стратегия лечения боли с нейропатической составляющей заключается в нейропротекции, которая фокусируется на глутаматергической дисфункции, нитрооксидативном стрессе, митохондриальной дисфункции, апоптозе, трофических факторах, нейровоспалении и изменениях неповрежденных волокон, индуцированных нейродегенерацией (*Bennett, NI 2012. In: Tracey, I. editor, IASP Refresher Courses on Pain Management, Seattle: IASP Press, 301-304, Urch, CE and Dickenson, AH 2008. Eur. J. Cancer 44: 1091-1096 Bennett, MI et al., 2012. Pain 153: 359-365; Bordet, T. and Pruss, RM 2009. Neurotherapeutics 6: 648-662*). В исследовании, проведенном на 3030 пациентах, страдающих от раковой боли, было сообщено о том, что 26% получали лечение НПВАС, а 23% - парацетамолом. Опиоидами, которые применялись для лечения от слабой до средней боли, были кодеин (8%), трамадол (8%), декстропропоксифен (5%) и дигидрокодеин (2%). В случае от средней до острой боли, наиболее широко применяемым был морфин, 40% перорально и 10% парентерально, с последующим применением пластырей с фентанилом (14%), оксикодоном (4%), метадоном (2%) и гидроморфоном (1%). Обширная выживаемость пациентов, страдающих от рака, которая обусловлена иммунотерапией, позволяет рассматривать рак в качестве хронического непередаваемого заболевания, так что длительное лечение опиоидами и недавние изменения на практике, такие как введение титрования до получения эффекта для опиоидов, привели к более высоким дозам, применяемым в клинических условиях, по сравнению с наблюдаемыми когда-либо ранее. Следовательно, в дополнение к выявленным побочным эффектам острой установки, наблюдались и другие, такие как развитие толерантности к анальгетическим эффектам, что непременно связано с последующим увеличением доз, зависимостью и пристрастием, а также гипогонадизмом, остеопорозом, иммуносупрессией, когнитивным нарушением и индуцированной опиоидами гипералгезией (ИОГ). Комбинации опиоидов и адъювантов в низких дозах обеспечивают возможность сведения к минимуму побочных эффектов и медленного титрования доз, которая не была предложена со стороны типов монотерапии (*Klepstad, P. et al., 2005. Palliat, Med.19: 477-84, Sullivan, MD and Howe, CQ 2013. Pain 154: S94-S100; Rivat, C. and Ballantyne, J. 2016. Pain Reports 1: e570*). Исследования метастаз костей и первичных моделей рака полости рта показали, что боль вырабатывается за счет изменений в микросреде опухоли через секрецию медиаторов опухолевыми клетками иммунной системы (лимфоцитами, макрофагами, тучными клетками и фибробластами), которые привлекаются в опухоль медиаторами, высвобождаемыми опухолевыми клетками.

Они включают в себя фактор роста нервов (NGF), эндотелин 1, аденозинтрифосфат (АТФ), простагландин E2 (PGE2), протоны H⁺, брадикинин (BK), протеазы, которые активируют и могут сенситизировать ноцицепторы. В частности, сигнализирующая NGF-рецепторная тирозинкиназа А (TrkA), экспрессируемая в сенсорных нейронах, является жизнеспособной при сенситизации, а также индуцирует фосфорилирование каналов транзиторного рецепторного потенциала ванилоидного рецептора 1 типа (TRPV1), его ретроградный перенос в нейрональную сомю индуцирует повышение экспрессии и синтез возбуждающих нейропептидов, таких как Р-вещество и пептид, связанный с геном кальцитонина (SP и CGRP), BK-рецепторов, каналов, таких как пуринергические рецепторы (P2X), кислоточувствительные каналы 3 (ASIC3), TRPV1, транскрипционные факторы, такие как транскрипционный фактор 3 (ATF3), связанный с повреждением нерва и структурными молекулами. Кроме того, этот сигналинг модулирует движение и инсерцию натриевых каналов (Nav 1.8) и TRPV1 в сенсорные мембраны и профиль экспрессии шванновских клеток и макрофагов. В частности, P2X4-рецептор вовлечен в сигналинг спинальная микроглия-нейрон и индуцирование механической гиперчувствительности после повреждения периферического нерва. Эти модели также продемонстрировали изменения центральной нервной системы (ЦНС), такие как повышенная экспрессия субъединицы NR2B рецепторов N-метил-D-аспартат (NMDA) и высвобождение провоспалительных цитокинов глиальными клетками, которые упрощают их фосфорилирование, а также фенотипные изменения в нейрональных популяциях наружных слоев заднего рога спинного мозга в мышечных моделях рака молочной железы. Эти изменения связаны с повышенной возбудимостью нейронов широкого динамического диапазона перед воздействием механического, теплового и электрического раздражителя, что предполагает под собой состояние центральной сенсibilизации. Активация глиальных клеток и взаимодействия между нейронами и глиями вносят вклад в генерирование и поддержание данного процесса, что не только ограничено спинным мозгом, но также оказывает воздействие на области стволовой части мозга, вовлеченные в понижение модуляции, что снижает боль. Следовательно, рост опухоли не только активирует, сенсibilизирует повреждения и индуцирует регенерирующиеся отростки в первичных и симпатических афферентных нейронах, но также индуцирует существенную проноцицептивную реорганизацию в ЦНС (Peters, CM et al., 2005. *Exp. Neurol.* 193: 85-100; Gordon-Williams, RM and Dickenson, AH 2007. *Curr. Opi. Support, Palliat.Care* 2007.1: 6-10; Yanagisawa, Y. et al., 2010. *Mol. Pain* 6:38; Latremoliere, A. and Woolf, CJ 2009. *J. Pain* 10: 895-926; De Leo, JA et al., 2006. *Pain* 122: 17-21; Tsuda, M. et al., 2003. *Nature* 424: 778-83). Следовательно, лекарственные средства, которые изменяют супраспинальную

биодоступность серотонина (5-НТ) и норадреналина (NA), такие как трициклические антидепрессанты (ТСА) и сбалансированные ингибиторы обратного захвата аминов, посредством которых они повышают понижающуюся бульбоспинальную ингибиторную модуляцию, демонстрируют свою эффективность при лечении раковой боли. Положительные результаты, достигнутые при применении комбинаций лекарственных средств в Схеме ступенчатого обезболивания ВОЗ и с бимодальными или полимодальными лекарственными средствами, такими как трамадол, тапентадол, метадон, дулоксетин, венлафаксин и т.д., которые комбинируют мономодальные механизмы интерактивным образом в обычном лекарственном средстве, свидетельствуют о клинической выраженности многофункциональной базовой задачи в части раковой боли. Кроме того, терапия комбинированными лекарственными средствами строит тенденцию делать попытки противостоять явлению толерантности и ИОГ, учитывая сходство механизмов глутаматергической дисфункции/нейроиммунной активации при хронической боли и парадигмы ИОГ. (*Bennett, MI 2011. Palliat, Med. 25: 553-9; Fishbain, D.2000, Ann. Med. 32: 305-16; Klepstad, P. et al., 2005. Palliat, Med. 19: 477-84. ; Mayer, DJ et al., 1999. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96: 7731-7736; Tawfik, VL and De Leo, J. 2007. In DeLeo, JA, Sorkin, LS, Watkins, LR editors and glial regulation of pain Seattle: IASP Press, pp. 341-359*). С другой стороны, много пациентов, страдающих от рака, старше 60 лет, так что свойственные выгоды от снижения побочных эффектов от снижения дозы и повышения эффективности с помощью синергетических механизмов и/или добавочных комбинаций лекарственных средств предлагают повышенный баланс эффективности и безопасности при фармакологическом лечении (*Atkinson, TJ et al., 2013. Clin.Ther.35: 1669-1689; Finnerup, NB et al., 2015. Lancet Neurol.14: 162-73*). Формальная демонстрация синергии, а также пропорции каждого лекарственного средства в комбинации, требует проведения интенсивного анализа изоболограммы, связанного с испытаниями фармакологической безопасности, которые оценивают возможные серьезные эффекты, которые ожидаются для комбинации этих известных средств, которые могут пересекаться. Интересным вариантом для этой стратегии в клинической практике было включение комбинации анальгетических лекарственных средств в фиксированном соотношении. Они дают хорошо стандартизированный и воспроизводимый клинический эффект двух лекарственных средств различных классов в составе, что может упрощать предписание и комплаентность к лечению за счет уменьшения количества лекарственного вещества, которое должны принимать пациенты (*Gilron, I. et al., 2013. Lancet Neurol 12: 1084-1095; Raffa, RB et al., 2010. J. Pain 11: 701-709*). В частности, парацетамол, будучи производным анилина, является привлекательным для разработки комбинаций, поскольку несмотря на

то, что его точный механизм действия не был полностью изучен до сих пор, он проявляет свои анальгетические действия через множество центральных механизмов, таких как ингибирование синтеза простагландинов, супраспинальная активация понижающихся ингибиторных серотонинергических путей, ингибирование SP-опосредованного пути оксида азота (NO) и активация NMDA-рецепторов. В недавнее время, взаимодействие его метаболитов с эндогенной каннабиноидной системой и ее каннабиноидными рецепторами типа 1 и 2 (CB1 и CB2) приобрело важность при контроле ноцицептивной передачи и хронической боли, а также при адаптивных изменениях опиоидных рецепторов при этих состояниях. Кроме того, слабые периферические действия парацетамола на синтез простагландинов делают его продуктом с улучшенной толерантностью по сравнению с НПВАС в части их влияния на желудочно-кишечный тракт и активность тромбоцитов. Однако другие периферические механизмы через рецепторы CB1 и CB2 могут еще более дополнительно способствовать их эффектам в пораженном месте при локальном введении путем применения составов для местного нанесения. В целом, способность парацетамола к множественному нацеливанию объясняет его признанную анальгетическую эффективность (Mitchell, D. et al., 2010. *Eur. J. Pharmacol.* 642: 86-92; Bjiirkman, R. et al., 1994. *Pain* 57: 259-264; Hama, HT and Sagen, J. 2010. *Neuropharmacology* 58: 758-66; Dani, M. et al., 2007. *Eur. J. Pharmacol.* 573: 214-5). С другой стороны, amitриптилин, будучи двойным ингибитором обратного захвата 5-НТ и NA, продемонстрировал свою эффективность при лечении нейропатической боли в точности ввиду своего множества механизмов, свойственных классу ТСА, не только ввиду повышения биодоступности аминов в синаптической щели, но и путем активации их рецепторов, активации опиоидных рецепторов (супраспинального δ и спинального μ), блокирования каналов Na^+ , активации каналов K^+ , ингибирования активности NMDA-рецептора, упрощения функции рецепторов GABA_B. А также посредством других механизмов, которые лучше изучены в этом конкретном лекарственном средстве в связи с воспалительными и иммунными параметрами, представляющими интерес при раковой боли, как и снижение экспрессии индуцибельного фермента синтазы оксида азота, продукция NO и фактора некроза опухоли альфа (TNF α). Кроме того, amitриптилин периферическим образом модулирует пуринергические рецепторы P2X, признанные за свою роль в воспалительных изменениях, индуцируемых в микросреде опухоли и при валлеровской дегенерации. Некоторые нейротрофические факторы, такие как производная глиальной клетки (GDNF) и производная головного мозга (BDNF), были вовлечены в действия этого лекарственного средства. Подобным образом, было признано его участие в подавлении нейровоспаления и нарушении глутаматных транспортеров у толерантных к морфину крыс. Его локальное

периферическое антиноцицептивное действие было по меньшей мере частично связано с повышением локальной биодоступности аденозина и активацией его A1-рецептора, считающегося ответственным за его анальгетический эффект. Следовательно, составы амитриптилина в форме геля или кремов были рекомендованы для лечения воспалительной боли (Micó, JA et al., 2006. *Trends Pharmacol, Sci* 27: 348-54, Arsenault, A. and Sawynok, J. 2009. *Pain*146: 308-314; Tai, YH et al., 2006. *Pain*124: 77-86; Yaron, I. et al., 1999. *Arthritis Rheum*, 42: 2561-2568, Oliveira Lima, F. et al., 2010. *Pain* 151: 506-515; Sawynok, J. et al., 1999. *Pain* 80: 45-55). В WO 2005/077168 A1 был описан способ лечения хронической боли, такой как нейропатическая боль и болевые фиброномышечные расстройства, а также композиции, такие как суспензии, таблетки или капсулы для перорального приема, содержащие низкую дозу для обеспечения 25 мг/сутки ТСА в комбинации с ненаркотическими анальгетиками, такими как парацетамол, в диапазоне от 0,50 до 2 г/сутки. Несмотря на то, что ТСА, как класс, имеют определенные характеристики, существуют явные отличия между индивидуальными средствами в части их относительной аффинности для конкретных механизмов, их дифференциального вклада в клиническое применение и профиля побочных эффектов (Sawynok, J. and Reid, A. 2001 *Pain* 93: 51-59). В нашем предложении нами был выбран амитриптилин ввиду его множества механизмов, представляющих интерес при смешанной раковой боли, что поддерживается тем, что он представляет собой средство из группы антидепрессантов, которое наиболее часто применяется у пациентов, страдающих от раковой боли с нейропатической составляющей (Berger et al. 2006. *Eur. J. Cancer Care* 15: 138-45). В этом патенте защищены композиции для конкретной нейропатической хронической боли и болевых фиброномышечных расстройств. По своей концепции, нейропатическая боль является болью, представляющей собой прямое следствие травмы или болезни, которая воздействует на соматосенсорную систему. В этом определении исключается термин «дисфункция нервной системы», хотя ранее оно включало данную концепцию, поскольку он может быть ошибочно интерпретирован, как изменения пластичности, свойственные ноцицептивной системе и являющиеся результатом мощной и долговременной ноцицептивной стимуляции (Treede, RD et al., 2008. *Neurology* 70:1630-1635). Термин «фиброномышечные расстройства» должен относиться к фибромиалгии в указанном выше документе, являющейся одним из наиболее частых соматических синдромов функциональной боли, связанных с центральной амплификацией обработки сенсорной, когнитивной и аффективной информации, дисфункцией эндогенной ноцицептивной ингибиторной системы, расстройствами сна и вегето-сосудистой дистонией (Claww, DJ and Williams, DA 2009. In: Mayer, EA and Bushnell, MC ed: *Functional Pain Syndromes:*

Presentation and pathophysiology, Seattle: IASP Press, pp. 3-22). В данном патенте не описывается хроническая смешанная боль, вызванная раком, которая явным образом может быть отличена от других типов боли в соответствии с ее патофизиологией и которая считается уникальной формой патологической боли, при которой сходятся воспалительные, нейропатические, ишемические составляющие и изменения пластичности нервной системы (*Harano, H. et al., 2010. J. dent. Res. 89: 615-20*). В примерах не описана эффективность клинических исследований предложенных фармакотерапевтических комбинаций по сравнению с лекарственными средствами, взятыми по отдельности. Они ограничены 3 отчетами о случаях рассеянной боли, вызванной фибромиалгией, рассеянной боли, связанной с головной болью, и о случае боли, вызванной остеоартрозом малых суставов конечностей, который лечили, в частности, доксициклином и аспирином, при этом ни одна из них не была классифицирована, как нейропатическая боль. Также не описана конкретная композиция парацетамола:амитриптилина с преимуществами, предлагаемыми в виде комбинации лекарственных средств в фиксированном соотношении, определенным изоболографическим методом, который демонстрирует ее синергию, пропорции и безопасность для экстраполяции ее доз на людей. В нашем предложении нами неожиданно было выявлено, что комбинация парацетамола:амитриптилина в фиксированном соотношении в диапазонах от 11,25 до 67,5 мг/сутки амитриптилина и от 114 до 684 мг/сутки парацетамола дает неожиданное уменьшение аллодинии и механической гиперноцицепции при состояниях повреждения нерва. Также, эта комбинация с пропорциями фиксированных доз, определенных в диапазонах от 1,54 до 9,24 мг/сутки амитриптилина и от 76 до 453 мг/сутки парацетамола, дает неожиданное уменьшение устойчивой воспалительной боли, что позволяет предложить ее применение в профилактике и/или лечении смешанной боли, вызванной раком. В фармакологических исследованиях безопасности и взаимодействия было определено, что композиция демонстрирует прирост эффективности за счет синергетических механизмов, пониженной дозы и побочных эффектов, так что она может предложить повышенный баланс эффективности-безопасности у пациентов данного типа, в частности, для парацетамола, известного своей гепатотоксичностью и нефротоксичностью, доза которого в композиции понижена более чем на $\frac{1}{4}$ от его обычной суточной дозы.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Целью настоящего изобретения является фармацевтическая композиция с фиксированной дозой, которая содержит парацетамол, ненаркотическое анальгетическое средство и amitriptyline, трициклический антидепрессант с противовоспалительными и иммуномодуляторными механизмами, а также по меньшей мере одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

Другая цель настоящего изобретения относится к представлению пропорций лекарственных средств, подлежащих комбинированию, и эффективных доз комбинаций, исследованных для их более эффективной и безопасной экстраполяции на людей. Результатом изоболографического исследования и фармакологической безопасности в двух моделях животных, одной из которых была постоянная боль, были изменения острой пластичности покоя ЦНС и другой нейропатии, основным патофизиологическим механизмом которых является нейровоспаление.

Также цель настоящего изобретения заключается в представлении разработки фармацевтических композиций, обладающих преимуществами по сравнению с фармацевтическими составами уровня техники. В частности, данная композиция, являющаяся комбинацией лекарственных средств с фиксированной дозой, способствует предписанию и склонности к лечению, демонстрирует повышение эффективности за счет синергетических механизмов, в частности, для снижения механической аллодинии, механической гиперноцицепции и постоянной воспалительной боли, снижение дозировки обоих лекарственных средств и побочных эффектов, так что она может предложить повышенный баланс эффективности-безопасности.

Другой целью настоящего изобретения является способ лечения смешанной боли, вызванной раком умеренной формы, который, как правило, лечат лекарственными средствами этапа 1 из Схемы ступенчатого обезболивания ВОЗ, при котором вводят композицию, представленную в настоящем изобретении. Она также может быть введена для лечения от слабой до средней боли, связанной со слабыми опиоидами, применяемыми на этапе 2, или от средней до острой боли, связанной с мощными опиоидами, применяемыми на этапе 3, для повышения ее анальгетической эффективности.

Еще одним другим аспектом настоящего изобретения является применение комбинации для защиты от дегенерации, индуцированной нейровоспалением после повреждения нерва (с профилактическим и/или терапевтическим эффектом), которое может иметь место ввиду инфильтрации или сжатия опухолью сенсорных волокон, или

терапии при смешанной боли, вызванной раком, при которой воспалительные, нейропатические и ишемические механизмы сходятся, давая боль.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Фиг. 1. Временная динамика эффекта от повышения доз amitriptyline по сравнению с носителем на поведение лизания/кусания после инъекции 2,5% формалина в подошвенную поверхность лапы крысы.

Фиг. 2. Временная динамика эффекта от повышения доз парацетамола по сравнению с носителем на поведение лизания/кусания после инъекции 2,5% формалина в подошвенную поверхность лапы крысы.

Фиг. 3. Эффект против гиперноцицепции от повышения доз amitriptyline (A) и парацетамола (B) на поведение лизания/кусания в ходе фазы II формалинового теста 2,5% на крысах, выражаемый в процентном отношении антиноцицепции или максимального возможного эффекта.

Фиг. 4. Эффект против гиперноцицепции от повышения доз комбинации парацетамола:amitriptyline на поведение лизания/кусания в ходе фазы II формалинового теста 2,5% на крысах, выражаемый в процентном отношении антиноцицепции или максимального возможного эффекта.

Фиг. 5. Изоболографический анализ, показывающий синергетическое антигиперноцицептивное взаимодействие комбинации парацетамола:amitriptyline для перорального приема при единичной дозе в ходе фазы II формалинового теста 2,5% на крысах.

Фиг. 6. Эффект от повышения доз amitriptyline по сравнению с габапентином или носителем при механической аллодинии (A) и механической гиперноцицепции (B) при введении в ипсилатеральную заднюю лапу ССИ-крыс.

Фиг. 7. Эффект от повышения доз парацетамола по сравнению с габапентином или носителем при механической аллодинии (А) и механической гиперноцицепции (В) при введении в ипсилатеральную заднюю лапу ССИ-крыс.

Фиг. 8. Эффект против аллодинии (А) и эффект против механической гиперноцицепции (В) от повышения доз amitriptilina, выражаемый в виде процентного отношения от максимального возможного эффекта (% MPE), по сравнению с габапентином или носителем при введении в ипсилатеральную заднюю лапу ССИ-крыс.

Фиг. 9. Эффект против аллодинии (А) и эффект против механической гиперноцицепции (В) от повышения доз парацетамола, выражаемый в виде процентного отношения от максимального возможного эффекта (% MPE), по сравнению с габапентином или носителем при введении в ипсилатеральную заднюю лапу ССИ-крыс.

Фиг. 10. Эффект от повышения доз комбинации парацетамола:амитриптилина (С1-С4) по сравнению с габапентином или носителем при механической аллодинии (А) и механической гиперноцицепции (В) при введении в ипсилатеральную заднюю лапу ССИ-крыс.

Фиг. 11. Эффект против аллодинии (А) и эффект против механической гиперноцицепции (В) от повышения доз комбинации парацетамола:амитриптилина (С1-С4), выражаемый в виде процентного отношения от максимального возможного эффекта (% MPE), по сравнению с габапентином или носителем у ССИ-крыс.

Фиг. 12. Изоболографический анализ, показывающий синергетическое антиаллодиническое взаимодействие комбинации парацетамола:амитриптилина для перорального приема при повторяемых дозах после 7 суток индуцирования повреждения, вызванного хронической компрессией седалищного нерва у крыс.

Фиг. 13. Качественный гистопатологический анализ секций седалищного нерва крыс для оценки нейропротекторного эффекта от комбинации парацетамола:амитриптилина на индуцированные хронической компрессией седалищного нерва (ССИ), связанные с валлеровской дегенерацией изменения на 14 сутки после хирургического вмешательства.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящем изобретении, относящемся к комбинации парацетамола:амитриптилина, фармакодинамическая рациональность была основана на знаниях о действиях обоих лекарственных средств на ноцицептивные пути, учете множество сайтов и механизмах, воздействующих на конкретные мишени, а также их побочных эффектах и фармакокинетических переменных. Исследование фармакологического взаимодействия обоих лекарственных средств было разработано для формальной демонстрации синергии посредством интенсивного изоболографического анализа (анализа графиков, на которые нанесены различные дозы двух лекарственных средств, для получения постоянной эффективности отдельно и в комбинации) в двух моделях *in vivo*. Это отвечает потребности в применении интегральных систем, в которых могут взаимодействовать периферическая активность, спинальная трансмиссия, системы модуляции и супрасегментные системы активной глобальной сети, которые приводят к восприятию боли (*Raffa, RB et al., 2010. J Pain 11: 701-709*). Эксперименты проводились на молодых крысах (8-10 недель, Спрег-Дули, самцы, 168-240 г, CENPALAB, Гавана, Куба) и их делили на несколько групп по $n = 6-7$ в каждой, которые принимали повышенные дозы обоих лекарственных средств отдельно и в комбинациях, для оценки эффекта в виде процентного отношения (%) антиноцицепции при единичных дозах в формалиновом тесте по сравнению с группой, получавшей лечение носителем. Этот тест считается стандартной моделью постоянной боли для исследования ноцицепции животных, который широко используется (*Okuda, K. et al., 2001. Pain 92: 107-15*). В этом тесте было описано двухфазное ноцицептивное поведение, первая или ноцицептивная фаза интерпретируется, как следствие прямой активации периферических окончаний ноцицепторов химическим раздражителем. При этом вторая, тоническая или поздняя фаза интерпретируется, как результат острой воспалительной реакции, а также периферическая и центральная сенсibilизация, вырабатываемая непрерывной активацией С-волокон (*Coderre, TJ et al., 1990. Brain Res. 535: 155 -8*). Данная фаза симулирует изменения в синаптической пластичности, которые происходят во время постоянной боли, которая может прогрессировать до хронической фазы, ввиду чего, в наших экспериментах ей уделено наивысшее внимание. Период между двумя фазами реакции идентифицируется, как фаза латентности, при которой активность ослабляется или практически приостанавливается, этот эффект связывается с участием механизмов центральной модуляции эндогенной боли (*Dubuisson, D. and, Dennis, SG 1977. Pain 4: 161-74; Omote, K. et al., 1998. Brain Res. 814: 194-8*). Временную динамику антиноцицептивной реакции на отдельные лекарственные средства и комбинации строили путем составления схемы среднего значения времени лизания/кусания с зависимостью от времени каждой фазы. Эти

значения преобразовывали в процентное отношение антиноцицепции, которое выражает процентное отношение ингибирования поведения относительно контроля конкретной фазы по формуле: % антиноцицепция = $((x - x_1)/x) * 100$. Где X = среднее значение времени лизания/кусания контрольной группы, получающей лечение носителем, X1 = время лизания /кусания каждого животного экспериментальной группы (для фазы I время лизания составляет 5 минут, для фазы II среднее значение времени составляет от 15 до 45 минут для каждого животного). В случае, когда X1 было больше чем X, значение 0 присваивали % антиноцицепции. Значение, близкое к 0%, означает, что поведение подобно таковому у контрольной группы, а значение, близкое к 100%, означает, что ноцизащитное поведение отсутствовало (Argüelles, C.F. et al., 2002. *Anesthesiology* 96: 921-5). Эффект amitriptилина против гипералгезии был признан в условиях повреждения нерва. Однако в данном тесте лекарственное средство демонстрирует дифференциальные действия на ноцизащитные модели поведения на спинальном и супраспинальном уровнях (Densmore, VS et al., 2010. *Pain* 151: 184-193 Sawynok, J. and Reid, A. 2001. *Pain* 93: 51-59). Одним из предложений объяснения этих расхождений была способность amitriptилина к повышению серотонинергического сигналинга, который имеет множество подтипов рецепторов, некоторые из которых имеют низкую, а другие - высокую аффинность, с гетерогенными и даже противоположными действиями, распределенными на разных уровнях ноцицептивных путей. Рецепторы 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT1D обладают ингибиторным действием на ноцицептивную передачу через прямые механизмы путем пресинаптического и постсинаптического ингибирования в наружных слоях заднего рога спинного мозга. Однако 5-HT2A и 5-HT3, 5-HT4 и 5-HT7, локализованные пресинаптическим образом, упрощают его. Было предложено, что взаимодействие этого лекарственного средства с рецепторами 5-HT с высокой аффинностью может объяснить его анальгетическую эффективность при низких дозах и явление гормезиса, которое демонстрирует кривую его дозозависимости (Suzuki, R. et al., 2004. *Trends Pharmacol.Sci.* 25: 613-7). При дозах 20, 25, 50 и 100 мг/кг существенный дозозависимый ингибирующий тип реакции не наблюдался при реакции лизания/кусания в обеих фазах, а реакции отдергивания, которые обрабатываются в основном спинально, повышались. Как следствие, фиксировали наиболее целостное поведение лизания/кусания и применяли дозы amitriptилина (0,1, 1, 3, 10 мг/кг, перорально, АМТ) для исследования кривой дозозависимости (фиг. 1). Существенный ингибирующий эффект наблюдали исключительно на фазе II при применяемых дозах, а эффективная доза 30 (ED30) для ингибирования ноцицептивного поведения в ходе этой фазы составила ED30 = 0,6677. Процентные отношения ингибирования фазы II (-11,38485681, 57,3479796, 55,55904276,

62,24401726 соответственно для доз 0,1, 1, 3, 10 мг/кг) были статистически значимыми от дозы 1 мг/кг ($p < 0,001$) (фиг. 3А). Для исследования кривой дозозависимости парацетамола, были применены повышенные дозы (50, 100, 200, 300 мг/кг, перорально, Р), в соответствии с предыдущими отчетами в более изученных моделях воспаления и его недавнего введения в модель нейропатической боли (Lee, YS et al., 2007. *Pain* 129: 279-286; Im, KS et al., 2012. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences* 28: 251-258). Несмотря на его слабую ингибирующую активность циклооксигеназных ферментов, это лекарственное средство понижает высвобождение спинального простагландина E2 при формалиновом тесте. После перорального приема парацетамола или ацетаминофена, он деацетилируется в печени до р-аминофенола и метаболизируется до AM404 в головном мозге гидролазой амидов жирных кислот (FAAH), этот метаболит усиливает активность супраспинальной каннабиноидной системы путем ингибирования обратного захвата и деградации его эндогенного анандамидного лиганда, который, через рецепторы CB1, усиливает активность серотонинергических нисходящих путей. Высвобождение спинального 5-НТ стимулирует рецепторы 5-НТ путем ингибирования ноцицептивной передачи в основном химических раздражителей, таких как формалин (5-НТ1А), и механических (5-НТ3 / 4). Липоаминокислота AM404 представляет собой агонист TRPV1-рецепторов в головном мозге, а также может способствовать ингибированию потенциалзависимых кальциевых каналов Т-типа, которые широко распространены в корковом и подкорковом полях, вовлеченных в модуляцию боли (Mallet, C. et al. 2008. *Pain* 139: 190-200; Kerckhove, N. et al., 2014. *Pain* 155: 764-772; Bonnefont, J. et al., 2005. *Pain* 114: 482-490). Несмотря на то, что в обеих фазах теста наблюдался классический ингибирующий эффект дозозависимого ноцицептивного поведения парацетамола, исключительно доза выше чем 300 мг/кг была снижена на фазе I, тогда как все используемые дозы были значительно ниже на фазе II (фиг. 2, фиг. 3В). ED30 для ингибирования фазы II была ED30 = 32,3578. Процентные отношения ингибирования фазы II (38,075018, 65,734843, 74,239207, 87,780137 соответственно для доз 50, 100, 200 и 300 мг/кг) были статистически значимыми ($p < 0,001$) (фиг. 3В). Результаты, полученные для каждого отдельного лекарственного средства, позволили получить доступ к теоретическим данным для вычисления экспериментальных фракций комбинации и для разработки исследования кривой дозозависимости в формалиновом тесте и изоболограммы. Было принято решение работать с ED30, хотя в обоих случаях нами были получены реакции, превосходящие 50% антиноцицепции, из соображений безопасности в отношении побочных эффектов, связанных с обоими лекарственными средствами, поскольку схема функции ED50 также предварительно предполагает повышенные дозы для исследования комбинации, которая

применялась бы на длительной основе в большинстве популяции пожилого возраста. Эта специальная популяция имеет повышенный риск передозировки, токсичности и взаимодействий между лекарственным средством и другим лекарственным средством, а также между лекарственным средством и заболеванием, вследствие фармакокинетических изменений, связанных со старением и сопутствующими заболеваниями, которые приводят к избыточному применению лекарственных препаратов (*Harvey, WF and Hunter, DJ 2010. Clin. Geriatr.Med 26: 503-515*). В частности, amitriptilin не рекомендуется в дозах выше чем 75 мг/сутки для взрослых людей старше 65 лет ввиду более интенсивных антихолинергических и седативных побочных эффектов с риском падения, когнитивной дисфункции, констипации, задержки мочеиспускания, сухости во рту, реакций со стороны сердечно-сосудистой системы, ортостатической гипотензии). Дозы выше чем 100 мг/сутки были связаны с повышенным риском внезапной необратимой остановки сердца (*Finnerup, N.B. et al., 2015. Lancet Neurol., 14: 162-73*). Основываясь на вычислении теоретической ED30 = 16,51277582 комбинации в пропорциях по 0,5 каждого лекарственного средства, дозы комбинации вычисляли из фракций теоретической пропорции ED30, которая составляет максимальную дозу (2, 4, 8, 16 мг/кг, перорально, C1, C2, C3, C4). % антиноцицепции наблюдали путем исключительного ингибирования дозозависимой фазы II со значениями 44,3913203 для дозы 2 мг/кг ($p < 0,01$) и 53,0414594, 57,0062523, 64,1632953% от дозы 4 мг/кг соответственно ($p < 0,001$) (фиг. 4). Экспериментальная ED30 = 0,3923 и экспериментальная точка расположена ниже линии аддитивности в соответствии с синергетическим взаимодействием (фиг. 5). Для коэффициента взаимодействия (ED30 экспериментальная / ED30 теоретическая), составляющего 0,02375799, значение меньше 1 является статистически значимым (таблица 2). Признаки общей токсичности и токсичности ЦНС не наблюдались. Понижение доз обоих лекарственных средств в комбинации представляет собой благоприятный элемент в парадигме безопасности, учитывая побочные эффекты трициклических антидепрессантов ввиду их воздействия на несколько систем нейротрансмиссии, которые являются более очевидными при масштабировании их доз, а также гепатотоксичности и нефротоксичности, описанных в отношении парацетамола.

ТАБЛИЦА 1.

Дозировка (мг/кг), применяемая в исследовании взаимодействия amitriptilina и парацетамола после перорального приема при формалиновом тесте.

<i>Амитриптилин</i>	<i>Парацетамол</i>	<i>Общая доза</i>
---------------------	--------------------	-------------------

<i>в комбинации</i>	<i>в комбинации</i>	
0,04	1,96	2,0
0,08	3,92	4,1
0,16	7,84	8,2
0,32	15,68	16,5

ТАБЛИЦА 2.

Эффективные дозы, вычисленные после перорального приема amitriptilina и парацетамола по отдельности или в комбинации при формалиновом тесте.

	<i>Пероральный прием ED30 (мг/кг)</i>
Амитриптилин	0,66±0,41
Парацетамол	32,35±7,85
Теоретическая комбинация	16,51±3,93
Экспериментальная комбинация	0,39±0,10*
Коэффициент взаимодействия	0,023

*ED30: эффективная доза, которая дает 30% понижения контрольной реакции. Данные представляют собой среднее значение ± среднеквадратическое отклонение (SD) оценки. * Существенные отличия в отношении данных теоретической комбинации ($p < 0,05$), по критерию Стьюдента*

Благоприятные результаты при единичной дозе на фазе II этого альгесимметричного теста дают свидетельство, которое позволяет нам двигаться в направлении модели нейропатической боли для исследования возможной комбинации при повторяемых дозах. Соответственно, была исполнена другая схема в модели хронической компрессии седалищного нерва (CCI), модели нейропатической боли, основным патофизиологическим механизмом которой является нейровоспаление, связанное с валлеровской дегенерацией (WD) (Bennett, GJ and Xie, YK 1988. Pain 33: 87-107; Berger, JV et al., 2011. Brain Res. Rev.67: 282-310). Модель CCI имеет высокую чувствительность (88%) для прогнозирования эффективности в контролируемых клинических исследованиях (Kontinen, VK and Meert, TF 2003. In: Dostrovsky, JO, Carr, DB, Koltzenburg, M. editors. the 10th World Congress on Pain, Seattle: IASP Press, p.489-98). Как только модель была воспроизведена, пороговое значение удаления травмированной задней лапы измеряли путем стимуляции нитями фон Фрея (механическая аллодиния) и путем стимуляции электронным методом фон Фрея (механическая гиперноцицепция). Эти

измерения выполняли при базовых условиях и на 7 сутки после ССИ (гипералгезический пик в модели), и в этот момент экспериментальные группы приспособляли ($n = 6-7$ на группу) для продолжения исследования кривой дозозависимости amitriptyline. Таким образом, устанавливали ED30 или ED50 в зависимости от % максимального возможного эффекта (MPE), который давало лекарственное средство, для ослабления каждого из сенсорных симптомов нейропатической боли, воспроизведенной моделью (*Jensen, TS and Baron, R. 2003. Pain 102: 1-8*). Габапентин, являющийся общепринятым лекарственным средством при этом лечении, использовали в качестве эталона. Группа ССИ-носителя (дистиллированная вода 10 мл/кг, перорально), группы amitriptyline (0,5, 1,5, 3, 10 мг/кг, перорально, АМТ), группа габапентина (50 мг/кг, перорально, GBP); ложная группа ССИ (дистиллированная вода 10 мл/кг, перорально). Суточное потребление обеспечивали при повторяемых дозах в течение 7 суток до 14 суток после ССИ, и в этот момент выполняли другую оценку переменных. Amitriptyline в дозах 3 и 10 мг/кг повысил пороговые значения отдергивания поврежденной лапы до стимуляции нитями фон Фрея ($p < 0.05$), кроме того, он существенно снизил интенсивность механической гиперноцицепции при дозе 1,5 ($p < 0,01$), 3 и 10 мг/кг ($p < 0,001$) (фиг. 6А и фиг. 6В). Экспериментальные группы формировали для исследования кривой дозозависимости парацетамола: Группа ССИ-носителя (дистиллированная вода 10 мл/кг, перорально), группы парацетамола (25, 50, 100, 200 мг/кг, перорально, Р), группа габапентина (50 мг/кг, перорально, GBP), ложная группа ССИ (дистиллированная вода 10 мл/кг, перорально). Эти дозы парацетамола не были связаны с повреждением печени или почек у крыс. Парацетамол показал значительный эффект против аллодинии от доз 50 мг/кг ($p < 0,05$) и эффект против механической гиперноцицепции дозозависимым образом 25, 50, 100 ($p < 0,01$) и 200 мг/кг ($p < 0,001$) наподобие GBP (фиг. 7А и фиг. 7В). Для выполнения составления схемы кривой дозозависимости, пороговые значения отдергивания преобразовывали в % MPE. [Механическая аллодиния: $MPE\% = (\text{пороговое значение после лечения} - \text{пороговое значение перед лечением}) / (15\text{г} - \text{порогового значения перед лечением}) \times 100$; Механическая гиперноцицепция: $MPE\% = (\Delta \text{ г после лечения} - \Delta \text{ г перед лечением}) / (50 - \Delta \text{ г перед лечением}) \times 100$]. Следовательно, такая же схема была исполнена с четырьмя дозами комбинации, вычисленными из теоретической эффективной дозы каждого лекарственного препарата, вычисление было выполнено для каждой переменной в зависимости от ED50 или ED30 в соответствии со способностью лекарственного средства к получению 50% или более MPE, составляющего 100%, что, как предполагается, является полным торможением механической аллодинии и механической гиперноцицепции, индуцированной ССИ. При наличии механической аллодинии,

амитриптилин, в соответствии с применяемыми дозами, показал следующие значения МРЕ: 0,5 мг/кг = 0,96%, 1,5 мг/кг = 1,31%, 3 мг/кг = 58,75% ($p < 0,05$), 10 мг/кг = 65,97% ($p < 0,05$) по сравнению с GBP 50 мг/кг = 60,66% ($p < 0,05$), ED₅₀ = 4,5422 (фиг. 8А). Кроме того, рассматривая интенсивность гиперноцицепции, значениями МРЕ являются: 0,5 мг/кг = 2,55%, 1,5 мг/кг = 16,07% ($p < 0,05$), 3 мг/кг = 35,43% ($p < 0,001$), 10 мг/кг = 44,95% ($p < 0,001$) по сравнению с GBP 50 мг/кг = 63,47% ($p < 0,001$), ED₃₀ = 3,1032 (фиг. 8В). Амитриптилин ингибировал оба изменения ноцицептивного процессинга, однако мощность этого эффекта имела следующий порядок: механическая аллодиния > механическая гиперноцицепция. В моделях нейропатической боли существуют противоречия в отношении наблюдения эффекта амитриптилина против механической аллодинии. В частности, в модели CCI, в которой используются повышенные дозы 32, 64 и 128 мг/кг, это лекарственное средство снижало термальную гиперноцицепцию, однако не демонстрировало эффект против аллодинии. Результат был подобен в модели частичного повреждения нерва (SNI), вместо этого он инвертировал реакции на раздражители, индуцированные химическими раздражителями, индуцированными АТФ и капсаицином, раздражителями, которые передаются С-волоконками, которые экспрессируют рецепторы P2X и TRPV1 и которые также вовлечены в передачу термальных раздражителей. Механическая аллодиния после повреждения нерва у крыс может отражать повышенную активность в А-волоконках по сравнению с С-волоконками, так что дифференциальный эффект амитриптилина, воздействующий на эти две переменные, отражает действия лекарственного средства на различные типы волокон (*De Vry, J. et al., 2004. Eur. J. Pharmacol. 491: 137-148; Arsenault, A. and Sawynok, J. 2009. Pain 146: 308-314; Benbouzid, M. et al., 2008. Eur. J. Pain 12: 1008-17*). Теперь нами было обнаружено, что за счет использования повторяемых малых доз в модели CCI, наблюдаются эффекты, воздействующие на механические сенсорные изменения, без каких-либо признаков седации или каталепсии. С другой стороны, парацетамол был едва ли изучен в модели нейропатической боли, однако было сообщено, что он снижает термальную гипералгезию, механическую аллодинию и холодovou аллодинию в модели CCI. В настоящем эксперименте дозы 300 мг/кг показали меньшую эффективность при снижении интенсивности механической гиперноцицепции чем дозы 200 мг/кг, так что для схемы исследования их кривой дозозависимости, нами было принято решение не использовать дозы выше чем 200 мг/кг, учитывая то, что парацетамол также взаимодействует с гетерогенным семейством рецепторов 5-НТ через каннабиноидную систему. В частности, перед механическими раздражителями, как было оценено в предыдущем эксперименте, это лекарственное средство могло опосредовать его анальгетические действия через

возбудительные рецепторы 5-HT, расположенные в ингибиторных ГАМК-эргических интернейронах, таких как 5-HT3 и 5-HT4 (*Im, KS et al., 2012. Kaohsiung Journal of Medical Sciences 28: 251-258; Suzuki, R. et al., 2004. Trends Pharmacol.Sci.25: 613-7*). Ацетаминофен в отношении механической аллодинии показал следующие значения МРЕ: 25 мг/кг = 25,65%, 50 мг/кг = 60,96% ($p < 0,05$), 100 мг/кг = 75,49% ($p < 0,01$), 200 мг/кг = 75,45% ($p < 0,01$), GBP 50 мг/кг = 60,66% ($p < 0,05$), ED50 = 47,5484 (фиг. 9А). Кроме того, в отношении интенсивности механической гиперноцицепции, значения МРЕ составляли: 25 мг/кг = 31,79% ($p < 0,01$), 50 мг/кг = 35,05% ($p < 0,01$), 100 мг/кг = 42,42% ($p < 0,001$), 200 мг/кг = 48,37% ($p < 0,001$), GBP 50 мг/кг = 63,47% ($p < 0,001$), ED30 = 22,5725 (фиг. 9В). Парацетамол ингибировал оба сенсорных изменения, вызванные механическими раздражителями в этой модели, однако его эффект также был более устойчивым над механической аллодинией > механической гиперноцицепцией. Теоретические эффективные дозы были вычислены для каждой переменной с учетом ED30 и ED50 в зависимости от способности лекарственного средства к получению 50% МРЕ в каждом случае. [механическая аллодиния: ED теоретическая = 26,04530269 (ED50); механическая гиперноцицепция ED теоретическая = 12,83786895 (ED30)]. Для разработки изоболографического анализа, экспериментальные фракции комбинации вычисляли в соответствии с ED50, начиная с достигнутого эффекта в отношении переменной механической аллодинии (нити фон Фрея). Вычисленными дозами были следующие (С1-С4: 3, 7, 13 и 26 мг/кг, соответственно) (таблица 3). Их вводили пероральным путем ежедневно, начиная с дня 7 после ССИ при гипералгезическом пике в течение 7 суток до дня 14 после ССИ. Комбинация парацетамол:амитриптилин продемонстрировала эффекты против механической аллодинии и гиперноцицепции в дозозависимой форме С3 ($p < 0,01$), С4 ($p < 0,001$) 14 суток после ССИ (фиг. 10А и фиг. 10В).

ТАБЛИЦА 3.

Дозировка (мг/кг) против аллодинии, применяемая в исследовании взаимодействия амитриптилина и парацетамола после перорального приема в модели хронической компрессии седалищного нерва.

<i>Амитриптилин в комбинации</i>	<i>Парацетамол в комбинации</i>	<i>Общая доза</i>
0,27	2,73	3
0,63	6,67	7
1,17	11,83	13

2,34	23,66	26
------	-------	----

Терапевтический эффект, выраженный, как МРЕ %, составил С1 = 14,40%, С2 = 47,60%, С3 = 72% ($p < 0,05$), С4 = 95% ($p < 0,01$), GBP = 67,16% ($p < 0,05$) (фиг. 11А). С3 и С4 были выше чем GBP 50 мг/кг в своем эффекте против механической аллодинии. Экспериментальная ED50 составляла 8,2178 мг/кг, тогда как теоретическая составляла 26,0453 мг/кг, так что комбинация показала синергетический эффект с коэффициентом взаимодействия 0,31, являющимся статистически значимым (фиг. 12 и таблица 4). Что касается испытаний фармакологической безопасности, которые были связаны с этим экспериментом, наблюдалось, что при примененных терапевтических дозах не наблюдались какие-либо изменения моторных функций, седация или катаlepsия перед срочным пероральным приемом, как было измерено через 30 мин, 1, 2 и 3 часа после его потребления, а также после 7 последовательных доз. Неожиданно мы наблюдали, что эти дозы, вычисленные из теоретической ED комбинации против аллодинии также существенно ингибировали механическую гиперноцицепцию, при этом значения % МРЕ для С3 и С4 являются выше чем достигаемые каждым лекарственным средством по отдельности, а также подобны значениями GBP (МРЕ %: С1 = 7,61%, С2 = 20,79%, С3 = 58,80% ($p < 0,01$), С4 = 67,97% ($p < 0,01$), GBP = 63,47% ($p < 0,01$) (фиг. 11В).

ТАБЛИЦА 4.

Эффективные дозы против аллодинии, вычисленные после перорального приема амитриптилина и парацетамола по отдельности или в комбинации в модели хронической компрессии седалищного нерва

	<i>Пероральный прием ED50 (мг/кг)</i>
Амитриптилин	4,54±2,28
Парацетамол	47,54±14,13
Теоретическая комбинация	26,04±7,16
Экспериментальная комбинация	8,21±0,77*
Коэффициент взаимодействия	0,31

ED50: эффективная доза, которая дает 50% понижения контрольной реакции. Данные представляют собой среднее значение \pm среднеквадратическое отклонение (SD) оценки.

**Существенные отличия в отношении данных теоретической комбинации.*

($p < 0,05$), по критерию Стьюдента.

С другой стороны, мы наблюдали неожиданное уменьшение ССИ-индуцированных WD-связанных гистопатологических изменений при применении этой комбинации в дозах 13 и 26 мг/кг (С3 и С4, соответственно), такое как: дезорганизация нервных волокон и увеличение количества клеток (пролиферация шванновских клеток и инфильтрация макрофагов) и деградация миелиновых оболочек, наблюдаемая у животных, которых лечили носителем (V), по сравнению с ложноперированными животными (S) (фиг. 13). Этот результат предполагает некоторый защитный эффект в отношении процесса нейровоспаления, которое происходит в ходе WD, и был основан на качественном наблюдении 5 мм секции, находящейся на расстоянии от очага седалищного нерва у ССИ-крыс. Эти животные получали комбинацию в повторяемых дозах в течение 7 суток от дня 7 после ССИ до дня 14 после хирургического вмешательства, после чего их умерщвляли. Несмотря на то, что некоторые нейропротекторные действия ТСА признаны, о снижении этих изменений для отдельных лекарственных средств сообщено не было, и может существовать отдельный механизм, который объясняет эффект против механической аллодинии, обеспечиваемый комбинацией. Это изменение сенсорной сферы было связано с аксональной дегенерацией А β -волокон седалищного нерва и изменениями регенерации, связанными с фактором роста нерва (NGF), которые происходят во время WD в течение оцениваемого периода модели. Несмотря на то, что потребление комбинации началось через 7 суток после индуцирования повреждения сразу после того, как была установлена механическая аллодиния (терапевтический эффект), процессы DW, которые начинаются через 24 часа после повреждения, продолжают в течение 3 или более недель. Таким образом, превентивный эффект на ранних стадиях эволюции этих процессов может быть существенным, в частности, внедрение нейтрофилов, которое происходит приблизительно в течение 7 суток, вносит вклад в периферические механизмы нейропатической боли (Ramer, MS et al., 1997. *Pain* 72: 71-8 Berger, JV et al., 2011. *Brain Res. Rev.* 67: 282-310; Debový, P. 2011. *Annals of Anatomy* 193: 267-275). Следовательно, были описаны противовоспалительные действия amitriptилина, которые могут быть релевантными в данном эффекте, такие как снижение высвобождения провоспалительных цитокинов (TNF α и IL-1 β) и периферическая модуляция пуриnergических рецепторов P2X. Они

экспрессируются в шванновских клетках, которые, ввиду аксонального отсоединения, переходят к активированному фенотипу, сигналинг ATP-P2X7 способствует синтезу NGF, провоспалительных цитокинов и хемокинов во время нейровоспалительной реакции на WD. Животные CCI демонстрируют пониженную экспрессию GDNF, и их потребление может снизить механическую аллодинию по сравнению с *недостаточно трофированной схемой* («undertrophed pattern») поврежденных волокон с понижением сигналинга GDNF, который защищает от фенотипических изменений. При этом здоровые волокна имеют *сверхтрофированную схему* («overtrophed pattern») с повышенным сигналингом NGF, который является проноцицептивным.

Амитриптилин может повысить синтез и высвобождение некоторых нейротрофических факторов, таких как GDNF и BDNF, которые могут обеспечивать нейропротекцию в этих условиях, а также усиление каннабиноидной системы, которая индуцирует парацетамол через рецепторы CB2, которые экспрессируются в основном в иммунных клетках, вовлеченных в процесс WD. (Tai, YH et al, 2006. *Pain*124: 77-86; Arsenault, A. and Sawynok, J. 2009. *Pain* 146: 308-314; Üçeiler, N. and Sommer, C. 2006. *Drug Discovery Today: Disease Mechanism* DOI: 10.1016 / j.ddmec.2006.09.004; Nagano, M. et al., 2003. *Br. J. Pharmacol.*140: 1252-60; Griffin, JW 2006. In: Campbell, JN, Basbaum, AI, Dray, A., Dubner, R., Dworkin, RH, Sang, CN, editors, *Emerging strategies for the treatment of neuropathic pain*, Seattle: IASP Press, p 271-90, Austin, PL and Moalem-Taylor, G. 2010. *Journal of Neuroimmunology* 229: 26-50).

Еще в одном аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической дозированной форме, содержащей фармацевтическую комбинацию по изобретению, которая была описана выше, и одно или более вспомогательных средств.

В другом аспекте фармацевтическая дозированная форма по изобретению пригодна для перорального приема, интраназального введения, местного применения, трансдермального или внутривенного введения.

Составы и дозированные формы по изобретению могут содержать вспомогательные средства, например, носители, наполнители, растворители, разбавители, красители и/или связующие вещества. Выбор вспомогательных средств и их применяемых количеств зависит, например, от того, каким намерен быть прием лекарственного препарата: пероральным приемом, интраназальным введением, местным применением, трансдермальным или внутривенным введением.

Для получения твердого состава, такого, как, например, таблетка, компоненты фармацевтической композиции включают в себя, но без ограничения, моногидрат лактозы, карбоксиметилкрахмал натрия, поливинилпирролидон К-25, глицерин, стеарат магния, этиловый спирт, тальк, аэросил, гидроксипропилметилцеллюлозу, вещество «Eudragit», вещество «Polyscoat», триэтилцитрат.

Для получения состава для местного применения, компоненты фармацевтической композиции включают в себя, но без ограничения: изопропилмиристант, соевый лецитин, плуроник 127, сорбиновую кислоту, сорбат калия, цетиловый спирт, стеариловый спирт, стеариновую кислоту, триэтаноламин, карбопол 940, карбопол 934, этилендиаминтетрауксусную динатриевую соль, метабисульфит натрия, пропиленгликоль, глицерин, вязкий жидкий вазелин, метилпарабен, пропилпарабен, полисорбат 80.

Для получения состава с контролируемым высвобождением для местного применения, компоненты фармацевтической композиции включают в себя, но без ограничения: изопропилмиристант, соевый лецитин, плуроник 127, сорбиновую кислоту, сорбат калия, цетиловый спирт, стеариловый спирт, стеариновую кислоту, триэтаноламин, карбопол 940, карбопол 934, этилендиаминтетрауксусную динатриевую соль, метабисульфит натрия, пропиленгликоль, глицерин, вязкий жидкий вазелин, метилпарабен, пропилпарабен, полисорбат 80, гидрогенизированный соевый фосфатидилхолин, дистеариловый фосфатидилглицерин, натриевую соль, дистеариловый фосфатидилхолин, холестерин, хитозан.

ПРИМЕРЫ

Пример 1

Модель постоянной боли (формалиновый тест, острое спонтанное поведение)

Крыс по отдельности помещали в открытую цилиндрическую стеклянную камеру (34 × 30 × 28 см). Животным отводилось 20 минут, чтобы они привыкли к камере до инъекции, и их возвращали обратно сразу после инъекции для наблюдения. За час до инъекции формалина животные были аккуратно обездвижены для перорального введения через желудочный зонд лекарственных препаратов в различных дозах или их несущей среды в соответствии с назначенной им группой. Формалин (50 мкл, подкожно) вводили путем инъекции в подошвенную область правой задней лапы крысы, используя микрошприц с иглой 26G. Поведение лизания/кусания лапы, подвергшейся инъекции,

регистрировали с использованием цифрового таймера в качестве общего времени лизания/кусания (с) в течение 5-минутных периодов наблюдения в течение 45 минут после инъекции формалина. Кривые реакции для вызванного формалином поведения лизания/кусания строили по фазовым записям: ранняя (0-5 мин), латентная (5-15 мин) и поздняя или тоническая (15-45 мин). Данные представлены в виде среднего значения времени лизания/кусания (/ 5 мин / сек) \pm стандартная ошибка среднего (SEM) в течение 45 минут теста. В конце эксперимента животных умерщвляли в атмосфере диэтилового эфира.

Пример 2

Модель хронической компрессии седалищного нерва (нейропатическая хирургия).

Поведенческая оценка механической аллодинии и механической гиперноцицепции

Животных подвергали анестезии тиопенталом (50 мг/кг, интраперитонеально). Хроническую компрессию (CCI) вызывали лигированием общего седалищного нерва с левой стороны (Bennett and Xie, 1988). Вкратце, общий седалищный нерв вскрывался на уровне середины бедра путем тупого рассечения двуглавой мышцы бедра. Ближе к его трифуркации около 7 мм нерва освобождали от прилегающей ткани, и три лигатуры (с использованием хромированного кетгута 4,0) свободно крепили к нему с интервалами 1–1,5 мм. Лигатуры лишь немного сужали диаметр нерва при просмотре под 40-кратным увеличением. Эта степень сжатия замедляла, но не останавливала кровообращение через поверхностную эпинеуральную сосудистую сеть и вызывала небольшое кратковременное подергивание мышцы вокруг места воздействия. Разрезы закрывали послойно. В ложноперированных контрольных группах выполняли идентичную операцию, но без лигатуры седалищного нерва (Bennett, GJ and Xie, YK 1988. *Pain* 33:87–107).

Механическую аллодинию задней лапы оценивали по отдергиванию лапы перед стимуляцией нитями фон Фрея. После того, как животных поместили в тестовые боксы (перевернутые пластиковые коробки с крышками 21 × 16 × 27 см³), нити прикладывали к подошвенной поверхности лапы (в центре) в восходящем и нисходящем порядке по мере необходимости, чтобы закрыть порог реакции. Каждую нить прикладывали 5 раз, 3 реакции из 5 прикладываний будут считаться положительными. Самая низкая интенсивность раздражителя соответствовала 0,25 г, а максимальная интенсивность - 15 г. Основываясь на характере реакции и прочности каждой нити, было вычислено 50% порога реакции в граммах. Четыре лапы животного должны поддерживаться с опорой на

пол из металлической сетки, во время измерения они не должны исследовать пространство или выполнять уход за собой, период адаптации 5-10 минут был завершен. Результирующий характер положительной или отрицательной реакции был табулирован с использованием преобразования $X = \text{отдергивание} / \text{отсутствие отдергивания}$, и 50% порога реакции интерполировали с использованием формулы: 50% порогового значения $g = (10f [x + \kappa\delta]) / 10000$, где x_f = значение (в логарифмических единицах) последней использованной нити, κ = табличное значение для положительного или отрицательного характера, а δ = среднее значение разницы между раздражителями (в логарифмических единицах), в данном случае - 0,224 (*Chaplan, SR et al., 1994. J. Neurosci, Methods 53: 55-63*).

Подобным образом мы поступили и для измерения механической гиперноцицепции, но реакцию отдергивания измеряли с помощью электронной модели фон Фрея INSIGHT®, Бразилия. Тест состоит из вызова реакции отдергивания путем применения ручного датчика силы электронного анальгезиометра с полипропиленовым наконечником 0,5 мм². Его применяют перпендикулярно центральной подошвенной области задней лапы с постепенным увеличением силы. Лапа отводится с характерным вздрагиванием; после отдергивания интенсивность давления регистрируется электронным способом. Значение реакции усредняется по трем измерениям. Животное оценивают до и после лечения, а результаты выражают в виде разности (Δ) порога отдергивания в граммах путем вычитания среднего значения измерений при различных интервалах времени из среднего значения измерений в момент времени 0 (*Cunha, TM et al., 2004. Braz. J. Med. Biol. Res. 37: 401-407*).

Пример 3

Фармакологические тесты поведенческой безопасности

Чтобы исключить признаки нарушения моторных функций, седацию или каталепсию, был проведен тест с вращающимся стержнем или ротародом. Аппарат состоит из планки диаметром 2,5 см, разделенной на 4 отделения. Планка вращалась с постоянной скоростью 22 об/мин, и оценивалось время, за которое животные падали с планки. Животных оценивали через 1 час после запуска. Использованное время отключения составляло 60 секунд. Кроме того, изучались тонус, поза, рефлекс выпрямления, роговица, жизненно важные признаки и общее состояние животного в период от 30 минут до 3 часов после введения препаратов по отдельности и в комбинации.

Роговичный и тимпанический рефлекс исследовали с помощью кончика тонкой бумаги, чтобы стимулировать роговицу или слуховой проход, и наблюдали быструю реакцию открытия и закрытия глаз или подвижность ушей у нормальных животных. Оценку позы и выпрямляющего рефлекса производили по шкале Девора и Залкинда. Шкала позы: 0 = нормальная поза, уход выполняется на задних лапах; 1 = умеренная атония и атаксия, сохраняет равновесие, но не может опираться на задние лапы; 2 = сохраняет равновесие, но атаксия тяжелая; 3 = сохраняет мышечный тонус, но не может сохранять равновесие, только незначительные намерения сделать движения; 4 = атония, вялость, полная неподвижность, никаких попыток к движению. Шкала рефлекса выпрямления: 0 = крыса сопротивляется, когда ее кладут горизонтально на спину на стол, после чего следует быстрый, скоординированный и сильный повторный приход в себя; 1 = Умеренное сопротивление при размещении на спине с быстрым, но не сильным повторным приходом в себя; 2 = нет сопротивления, когда животное кладут на спину с усилием, но успешный повторный приход в себя в конце; 3 = неудачный повторный приход в себя; 4 = отсутствие движений (*Rosland, JH et al., 1990. Pharmacol, Toxicol.66: 382-6, Devor, M. and Zalkind, V. 2001. Pain 94: 101-112*).

Пример 4

Исследование фармакологического взаимодействия. Изоболографический анализ

Метод основан на выборе уровня эффекта, который обычно составляет 50% от максимального эффекта (ED50%). Если этот эффект не вырабатывается, то используют ED30. Эти эффекты получены из соответствующих кривых доза-эффект каждого лекарственного средства, вводимого животным в 4 дозах. Комбинация вспомогательных веществ, соответствующая определенному эффекту, состоит из 2 частей, которые вносят часть указанного эффекта. В этом случае было выбрано, чтобы каждая фракция составляла 0,5, так что теоретическая ED50 (ED50T) комбинации содержит 0,5 ED50 амитриптилина и 0,5 ED50 парацетамола. Далее создается экспериментальная кривая доза-эффект, которая содержит комбинации в установленном соотношении (ED50T) 1/2, 1/4, 1/8 и 1/16, и рассчитывается экспериментальная ED, которая статистически сравнивается с теоретической. Изоболограмма показывает результаты на графике, координаты которого представляют вклад, обеспечиваемый каждым препаратом. Линия, которая соединяется как пересечения с ED50 парацетамола и амитриптилина, содержит все возможные комбинации вспомогательных веществ (линия простой аддитивности), а

центр этой линии соответствует ED50T комбинации или точки аддитивности (*Tallarida, RJ 2011. Genes and Cancer 10: 1003-1008; Raffa, RB et al., 2010. J. Pain 11: 701-709*). Полученная экспериментальная точка ED50E наносится на график в декартовой системе координат, и область, в которой она расположена, определяет тип взаимодействия. В случае синергетического взаимодействия экспериментальная точка находится под линией аддитивности. В противном случае, если возникает антагонистическое взаимодействие, точка будет расположена на линии аддитивности, а если точка расположена в секторе, близком к линии аддитивности, взаимодействие будет представлять собой простую аддитивность. Кроме того, коэффициент взаимодействия между препаратами рассчитывается по следующей формуле: $ED50E / ED50T$. Если результирующее значение меньше 1, это соответствует синергетическому взаимодействию; когда оно равно 1, взаимодействие является аддитивным, а если больше 1, оно является антагонистическим. Статистический анализ данных, полученных на кривых логарифмической реакции на дозу, анализировали с помощью линейной регрессии по методу наименьших квадратов для определения ED50 или ED30. Статистические параметры, относящиеся к изоболограммам, рассчитывали с помощью компьютерной программы отдела фармакобиологии Центра исследований и перспективных исследований, Южная штаб-квартира, город Мехико. Данные кривых доза-эффект сравнивали с их соответствующими контролями с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим тестом Тьюки или Даннета для сравнения различий с разными видами лечения. Статистическую значимость между ED50 / 30T и ED50 / 30E определяли с помощью t-критерия Стьюдента, учитывая во всех случаях значимость на уровне 5% ($p < 0,05$) (*Argüelles, CF et al., 2002. Anesthesiology 96: 921-5; Caram-Salas, NL et al., 2006. Pharmacology 77: 53-62*).

Пример 5

Гистопатологическое исследование

Животных умерщвляли через 14 дней после ССИ передозировкой диэтилового эфира, а образцы 5-миллиметрового седалищного нерва, расположенного дальше от поражения, хранили в фиксирующем растворе (10% формалин) и выполняли разрез толщиной 4 мкм. Окрашивание проводили гематоксилином и эозином. Секции нервов были качественно проанализированы под световым микроскопом (20×) на аксональную дегенерацию, вызванную ССИ. Подобным образом мы поступили с секциями седалищного

нерва ложнопериорированных животных. Животные, которым давали несущую среду, демонстрируют повышенную относительную клеточность по сравнению с ложными животными, оперированными в результате пролиферации шванновских клеток и инфильтрации макрофагов, наличия септики в шванновских клетках с миелиновыми овоидами, нарушения выравнивания аксонов с потерей их миелиновых оболочек, индикаторов валлеровской дегенерации. Качественно, животные, получавшие GBP в качестве положительного контроля, показали уменьшение этих изменений. Образцы были взяты от животных, получавших возрастающие дозы препаратов по отдельности и их комбинации (*Sudoh, Y. et al., 2004. Reg. Anesth. Pain Med.29: 434-40; Debový, P. 2011. Annals. of Anatomy 193: 267-275*).

ПЕРВОНАЧАЛЬНАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция, содержащая комбинацию amitriptyline и paracetamol с фиксированной дозой.

2. Фармацевтическая композиция по п. 1, отличающаяся тем, что amitriptyline присутствует в количестве от 1 до 22,5 мг, а paracetamol присутствует в количестве от 49 до 227,5 мг.

3. Фармацевтическая композиция по п. 2 для ее применения при производстве лекарственного препарата для профилактики и/или лечения смешанной раковой боли.

4. Фармацевтическая комбинация, содержащая фармацевтическую композицию, описанную в п. 1, в качестве активного ингредиента и фармацевтически активные вспомогательные вещества.

5. Фармацевтическая комбинация по п. 4 для ее применения при производстве лекарственного препарата для профилактики и/или лечения смешанной раковой боли.

6. Фармацевтическая комбинация по п. 4 для ее применения при производстве лекарственного препарата для индуцирования нейропротекции в нейродегенеративных процессах, которые сопровождают синдромы нейропатической боли при онкологических и неонкологических заболеваниях.

7. Фармацевтическая комбинация по п. 5 и/или п. 6, отличающаяся тем, что комбинация предназначена для перорального приема, интраназального введения, местного применения, трансдермального или внутривенного введения.

8. Фармацевтическая комбинация по п. 7, отличающаяся тем, что композиция представлена в форме таблетки, назального спрея, порошка для ингаляций, мази, пластыря, раствора или суспензии для инфузий.

9. Фармацевтическая комбинация по п. 8, отличающаяся тем, что активные ингредиенты вводят одновременно, по отдельности или последовательно в ходе курса лечения.

10. Фармацевтическая комбинация по п. 9, отличающаяся тем, что фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества предназначены для контролируемого высвобождения amitriptyline и/или paracetamol.

11. Набор, который содержит первую дозированную форму, содержащую amitriptyline, описанный в пп. 1-3, и вторую дозированную форму, содержащую paracetamol, описанный в пп. 1-3.

12. Набор по п. 10, отличающийся тем, что первая и вторая дозированные формы адаптированы для одновременного, отдельного или последовательного введения через одинаковые или через разные пути введения.

13. Способ лечения смешанной раковой боли, включающий введение терапевтически эффективной дозы фармацевтической композиции, содержащей комбинацию amitriptyline и парацетамола с фиксированной дозой, нуждающемуся в этом субъекту.

14. Способ по пп. 5-6, отличающийся тем, что amitriptyline присутствует в такой композиции в количестве от 1 до 22,5 мг, а парацетамол присутствует в такой композиции в количестве от 49 до 227,5 мг.

15. Способ по пп. 5-6 для применения в профилактике и/или лечения слабой боли.

16. Способ по пп. 5-6 для применения вместе со слабыми опиоидами в профилактике и/или лечения от слабой до средней боли.

17. Способ по пп. 5-6 для применения вместе с сильными опиоидами в профилактике и/или лечения от средней до острой боли.

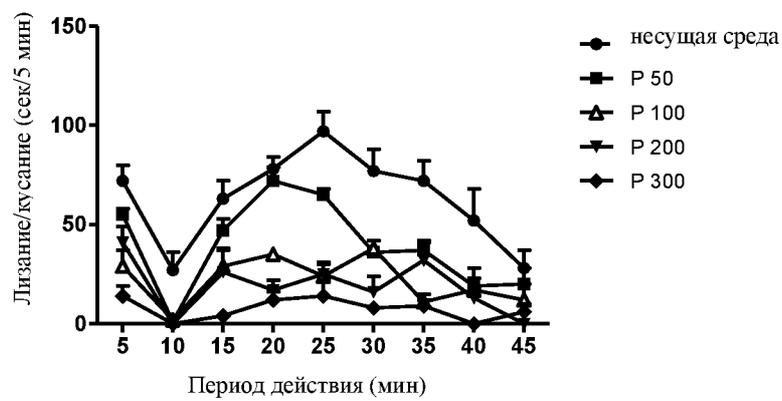
18. Способ по пп. 5-6 для применения при индуцировании нейропротекции в нейродегенеративных процессах, которые сопровождают синдромы нейропатической боли при онкологических и неонкологических заболеваниях.

19. Способ по пп. 13-18, отличающийся тем, что способ включает введение фармацевтической комбинации по пп. 4-9 или набора по пп. 10-11 один или более раз в сутки.

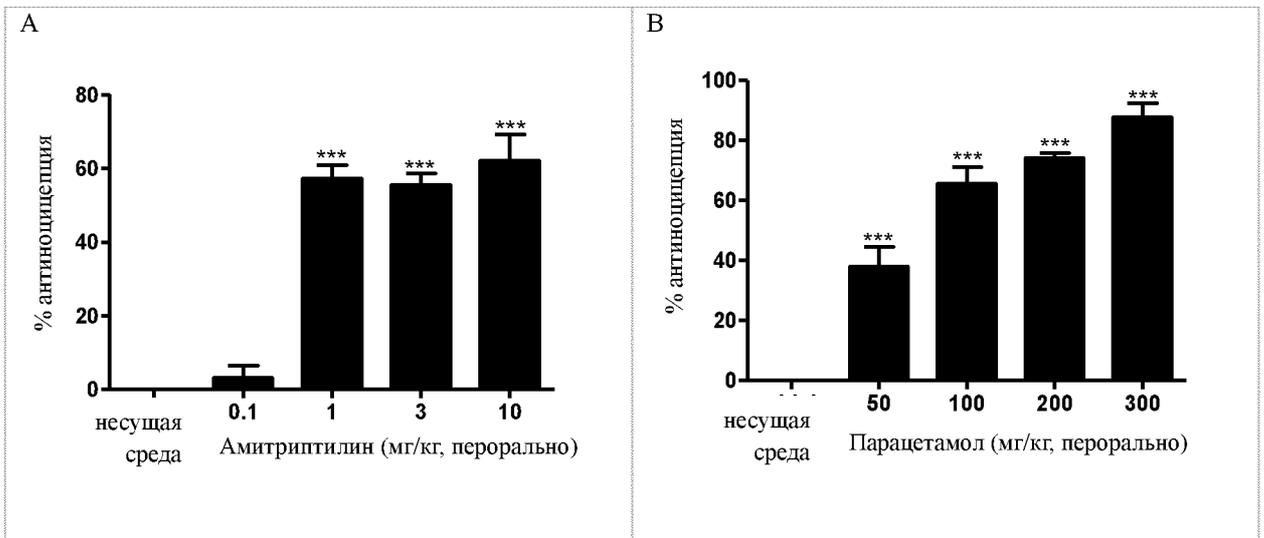
20. Способ по пп. 13-19, отличающийся тем, что каждое из фармацевтической комбинации по пп. 4-9 или набора по пп. 11-12 составлено для перорального приема, местного применения, трансдермального или интраназального введения.



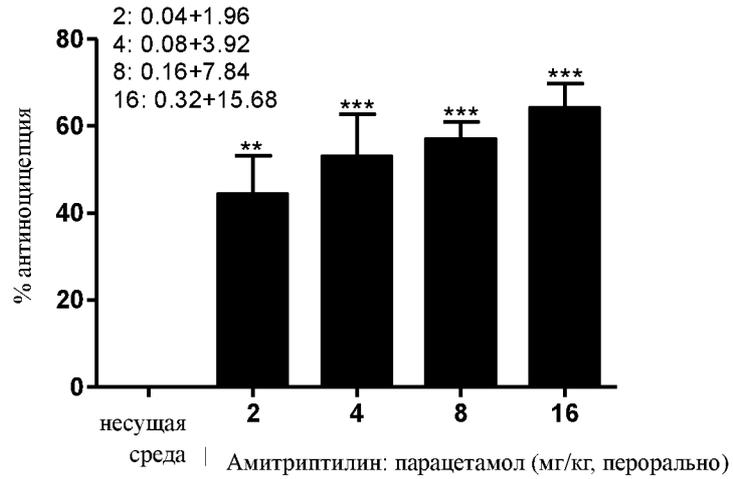
Фиг. 1



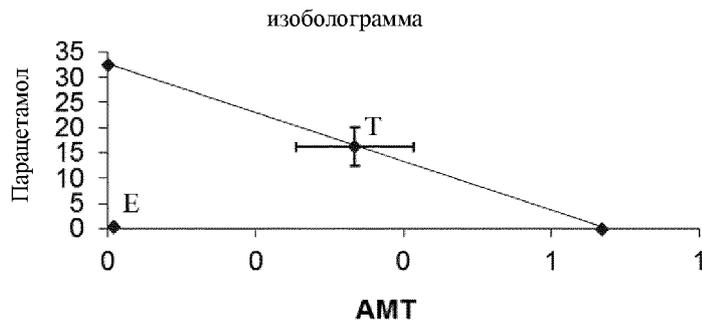
Фиг. 2



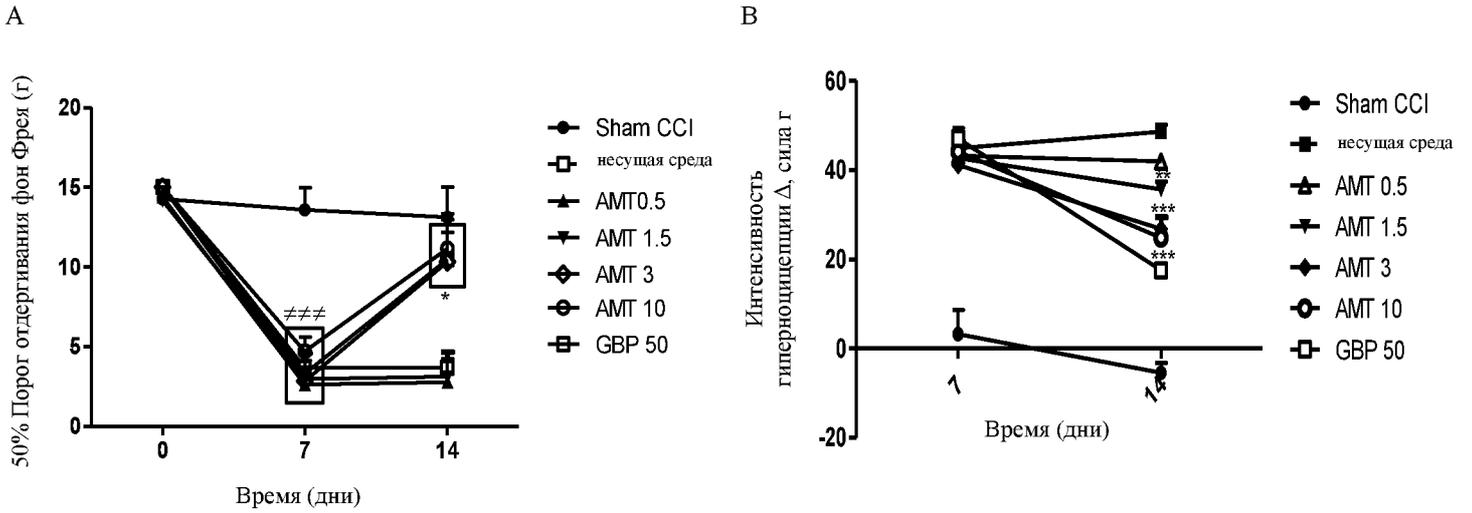
Фиг. 3. (А) и (В) *** $p < 0,001$ по сравнению с группой, получавшей несущую среду. Односторонний дисперсионный анализ ANOVA с последующим *апостериорным* тестом Тьюки.



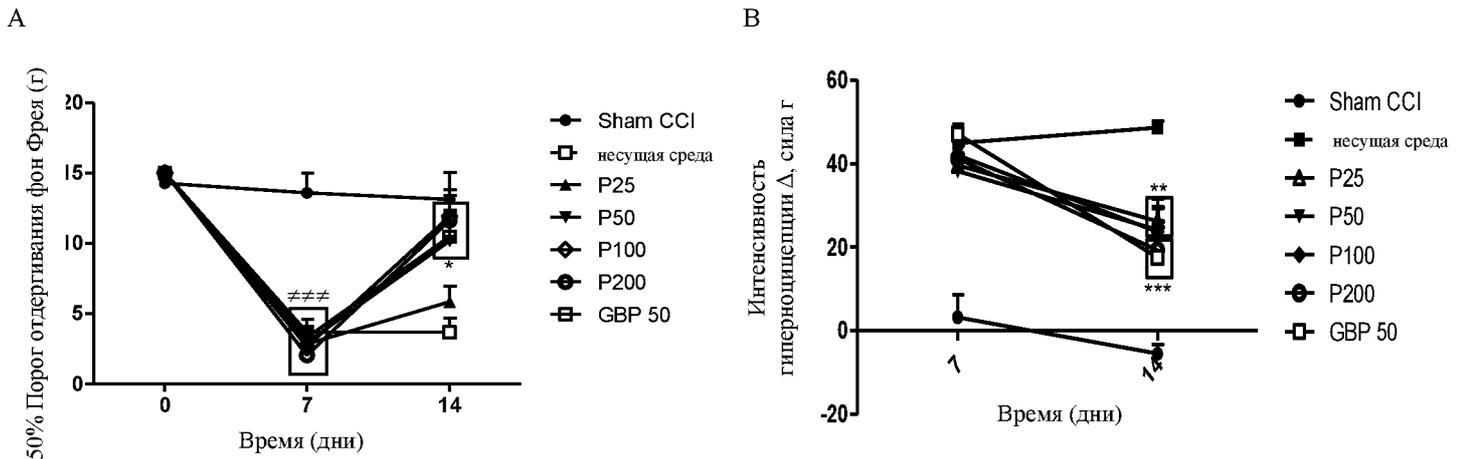
Фиг. 4. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ по сравнению с группой, получавшей несущую среду. Односторонний дисперсионный анализ ANOVA с последующим *апостериорным* тестом Тьюки.



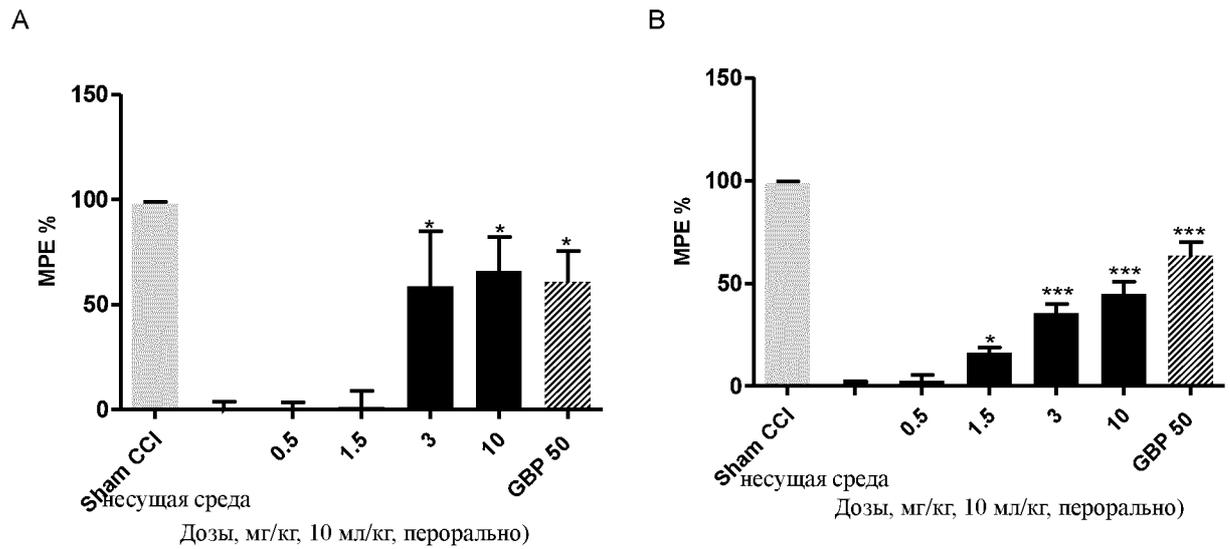
Фиг. 5



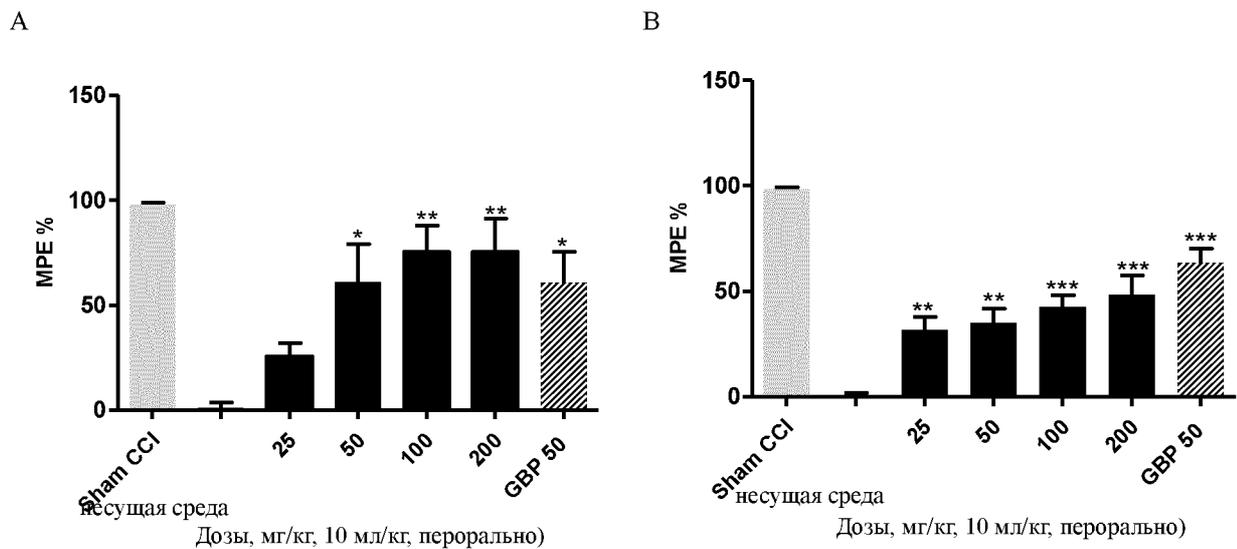
Фиг. 6. (А) и (В) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ по сравнению с группой, получавшей несущую среду ### $p < 0,001$ по сравнению с группой ложной (Sham) CCI. Односторонний дисперсионный анализ ANOVA с последующим *апостериорным* тестом Даннета.



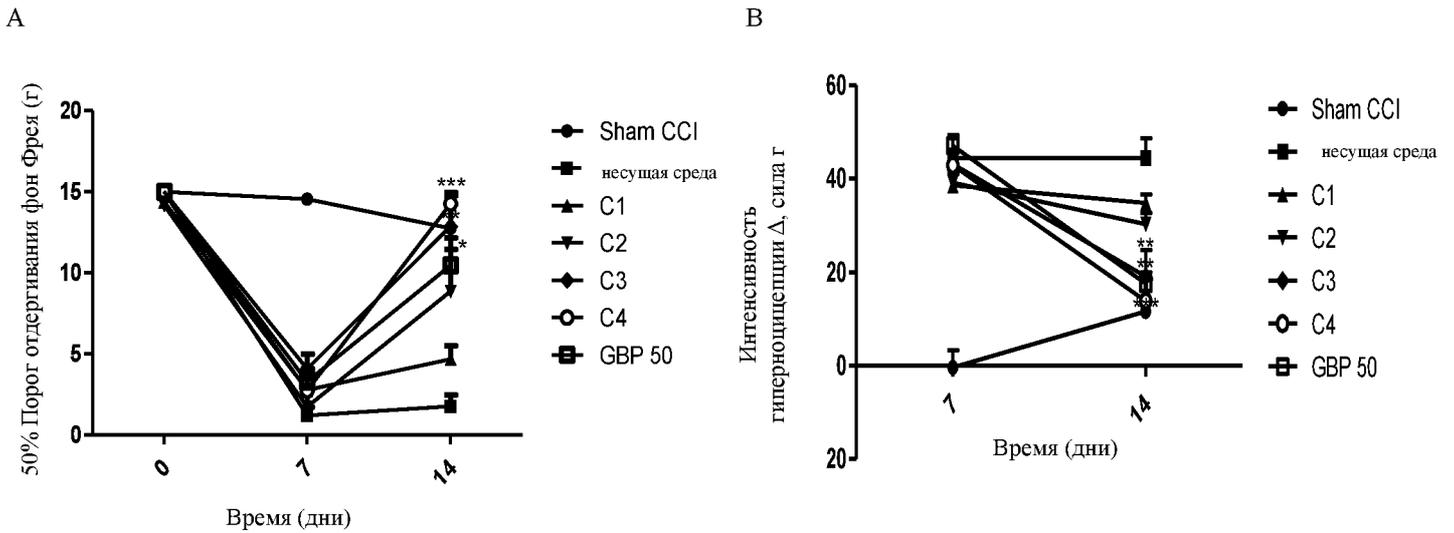
Фиг. 7. (А) и (В) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ по сравнению с группой, получавшей несущую среду ### $p < 0,001$ по сравнению с группой ложной (Sham) CCI. Односторонний дисперсионный анализ ANOVA с последующим *апостериорным* тестом Даннета.



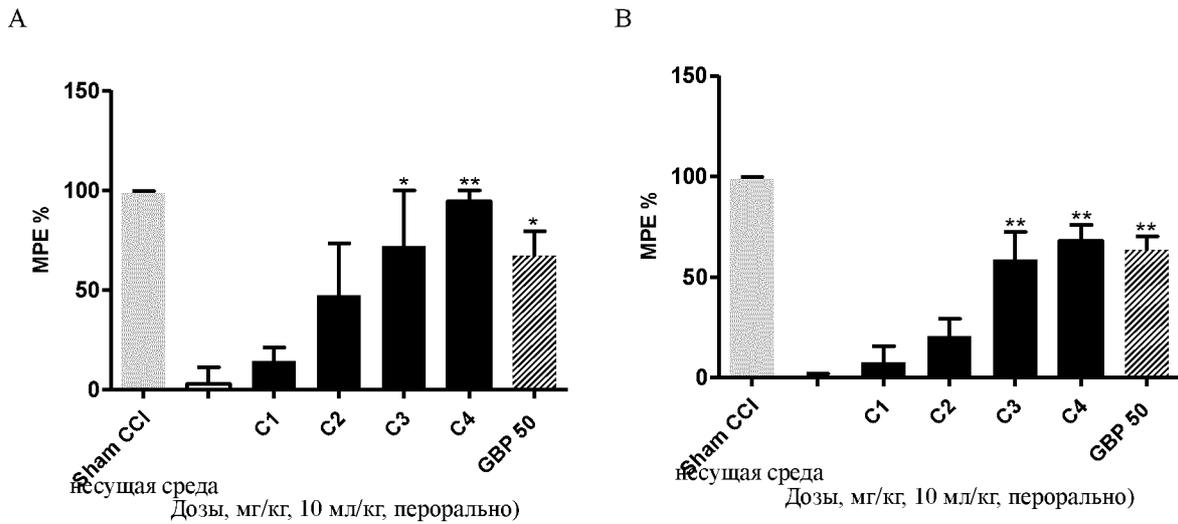
Фиг. 8. (А) и (В) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ по сравнению с группой, получавшей несущую среду (односторонний дисперсионный анализ ANOVA с последующим апостериорным тестом Даннета).



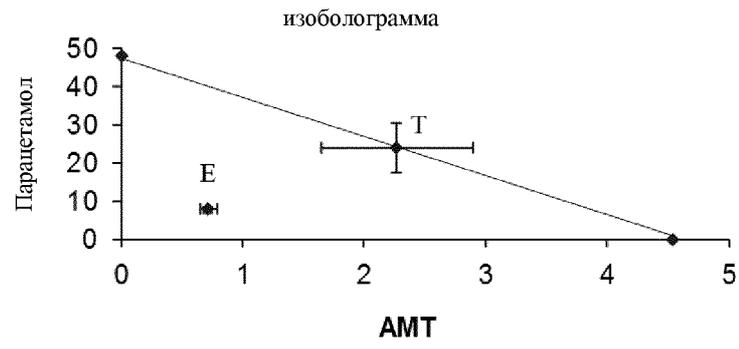
Фиг. 9. (А) и (В) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ по сравнению с группой, получавшей несущую среду. Односторонний дисперсионный анализ ANOVA с последующим апостериорным тестом Даннета).



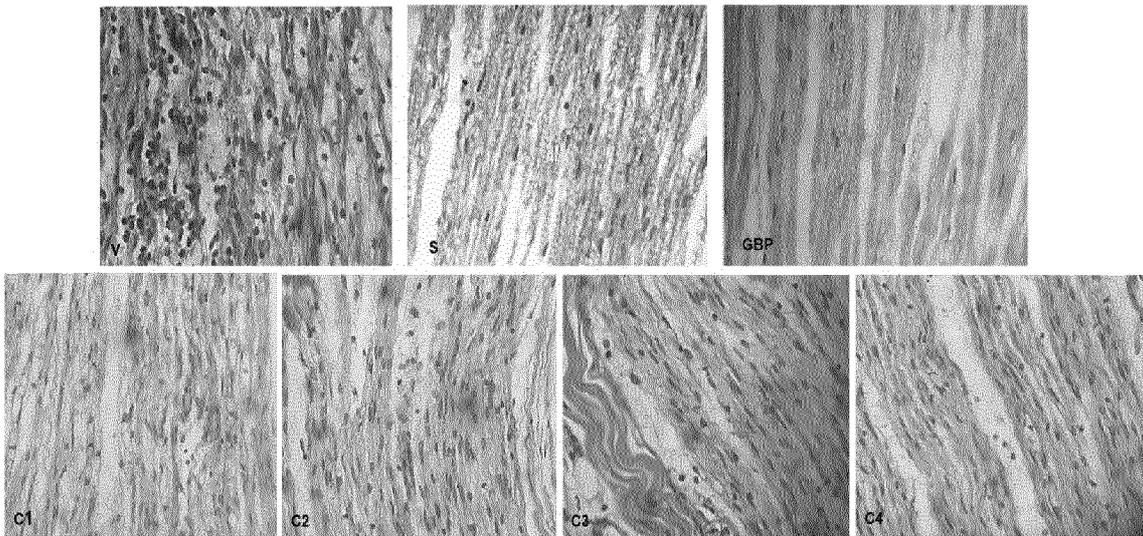
Фиг. 10. А) и (В) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ по сравнению с группой, получавшей несущую среду ### $p < 0,001$, представляют собой значимые различия по сравнению с группой ложной (Sham) CCI. Односторонний дисперсионный анализ ANOVA с последующим апостериорным тестом Даннета).



Фиг. 11. (А) и (В) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ по сравнению с группой, получавшей несущую среду. Односторонний дисперсионный анализ ANOVA с последующим апостериорным тестом Даннета).



Фиг. 12



Фиг. 13