



ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРЕПАРАТА «КОБАФЕН» ЛИОФИЛИЗАТ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ РАСТВОРА ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ С РАСТВОРИТЕЛЕМ

Юнусхожиева Нигора Элмурод кизи

Ташкентский фармацевтический институт, студентка 3 курса

E-mail: yunusxodjaeva-n@mail.ru

<https://doi.org/10.5281/zenodo.6037441>

ИСТОРИЯ СТАТЬИ

Принято: 15-декабрь 2021
Утверждено: 15-январь 2022
Опубликовано: 5-февраль 2022

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

«КОБАФЕН», диклофенак натрия, мекобаламин, лиофилизат, острой токсичность, противовоспалительная и анальгетическая активность.

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), имеющие более чем 50-летнюю историю, являются самыми востребованными препаратами в современном мире. При общей тенденции к старению человеческого общества растет и число пациентов, нуждающихся в применении НПВП [1]. В класс традиционных НПВП в настоящее время входят более 20 препаратов, близких по химической структуре, но различающихся между собой по силе анальгетического действия и частоте побочных эффектов. В соответствии с рекомендациями ВОЗ при назначении обезболивающих препаратов должна оцениваться степень болевых ощущений. Общеизвестно, что НПВП-эффективное средство патогенетической терапии острой или хронической боли, которое используется миллионами пациентов в мире.

АННОТАЦИЯ

В данной статье проведены доклинические исследования препарата «Кобафен» лиофилизат для приготовления раствора для инъекций с растворителем по показателям острой токсичности, противовоспалительная и анальгетической активности. В результате изучения острой токсичности было установлено, что испытуемый препарат относится к четвёртому классу токсичности «Малотоксичные», а также было установлено, что испытуемый препарат обладает такой же безвредностью, как, и препарат сравнения.

По статистике ВОЗ, данный показатель составляет почти 30 млн человек, среди них 40% – лица пожилого возраста, и эта цифра постоянно растет[2].

Мекобаламин (производное витамина B12) необходим для клеточного роста и репродукции, для формирования дезоксирибозы и ДНК, креатина, метионина – донора метильных групп, в синтезе липотропного фактора – холина, для превращения метилмалоновой кислоты в янтарную, входящую в состав миелина, для утилизации пропионовой кислоты. S-аденозилметионина из гомоцистеина за счет переноса метильных и других одноуглеродистых фрагментов.

Диклофенак натрия - НПВС, производное фенилуксусной кислоты. Оказывает выраженное противовоспалительное, анальгезирующее и умеренное



жаропонижающее действие. Механизм действия связан с угнетением активности ЦОГ - основного фермента метаболизма арахидоновой кислоты, являющейся предшественником простагландинов, которые играют главную роль в патогенезе воспаления, боли и лихорадки. Анальгезирующее действие обусловлено двумя механизмами: периферическим (опосредованно, через подавление синтеза простагландинов) и центральным (за счет ингибирования синтеза простагландинов в центральной и периферической нервной системе).

Ингибирует синтез протеогликана в хрящах. При ревматических заболеваниях уменьшает боли в суставах в покое и при движении, а также утреннюю скованность и припухлость суставов, способствует увеличению объема движений. Уменьшает посттравматические и послеоперационные боли, а также воспалительный отек.

Подавляет агрегацию тромбоцитов. При длительном применении оказывает десенсибилизирующее действие.

Препарат оказывает выраженное противовоспалительное, анальгезирующее и умеренное жаропонижающее действие. Механизм действия связан с угнетением активности циклооксигеназы - основного фермента метаболизма арахидоновой кислоты, являющейся предшественником простагландинов, которые играют главную роль в патогенезе воспаления, боли и лихорадки. Анальгезирующее действие обусловлено двумя механизмами: периферическим (опосредованно, через подавление синтеза простагландинов) и

центральным (за счет ингибирования синтеза простагландинов в центральной и периферической нервной системе). Ингибирует синтез протеогликана в хрящах. При ревматических заболеваниях уменьшает боли в суставах в покое и при движении, а также утреннюю скованность и припухлость суставов, способствует увеличению объема движений. Уменьшает

посттравматические и послеоперационные боли, а также воспалительный отек. Подавляет агрегацию тромбоцитов, индуцированную аденозиндифосфатом и коллагеном.

Цель исследования: доклиническое изучение препарата «Кобафен» лиофилизат для приготовления раствора для инъекций с растворителем, по показателям острой токсичности, противовоспалительная и анальгетической активности.

Исследование острой токсичности препарата «Кобафен» лиофилизат для приготовления раствора для инъекций с растворителем

Материалы и методы исследования.

Во всех исследованиях были использованы здоровые животные, прошедших карантин не менее 10-14 дней [3,4].

Изучение острой токсичности проводили по общепринятой методике на белых мышах (оба пола) массой тела 18-22 г, в группе по 6 животных, всего использовано 60 животных.

В качестве эталонного препарата для сравнительной оценки острой токсичности и специфической активности нами был выбран препарат «Диклоберл» раствор для инъекций, «Berlin-Chemie AG» (Menarini Group)



Германия, произведено: «A.Menarini Manufacturing Logistics and Services s.r.l.» Италия.

Испытуемый препарат опытным животным вводили внутримышечно (в бедренную мышцу), в виде 1% раствора, в дозах: 50 мг/кг (0,1 мл/20 г), 150 мг/кг (0,3 мл/20 г), 200 мг/кг (0,4 мл/20 г), 250 мг/кг (0,5 мл/20 г) и 300 мг/кг (0,6 мл/20 г).

Препарат сравнения опытным животным вводили внутримышечно (в бедренную мышцу), в дозах: 50 мг/кг (0,1 мл/20 г), 150 мг/кг (0,3 мл/20 г), 200 мг/кг (0,4 мл/20 г), 250 мг/кг (0,5 мл/20 г) и 300 мг/кг (0,6 мл/20 г).

Так как согласно литературным данным максимальный объём при внутримышечном введении составляет 0,5 мл/20 г, то для введения большего объёма нами был применён дробный метод. При введении объёма 0,6 мл/20 г, сперва вводили 0,3 мл/20 г, затем через 10 минут вводили 0,3 мл/20 г.

Далее животных помещали в отдельные клетки по группам, и вели непрерывное

наблюдение в течение первого часа, далее вели ежечасное наблюдение в течение первых суток, и один раз в сутки, в последующие 13 дней опыта (общий срок наблюдения 14 суток). При этом регистрировали клиническую картину интоксикации и летальность животных [1, 2]. Расчет среднесмертельной дозы (ЛД₅₀) проводили по методу Литчфилда и Уилкоксона, с использованием пробит анализа [3].

Во время эксперимента все животные содержались в стандартных условиях вивария, и находились на полноценном пищевом и водном рационе.

Результаты исследования. После введения препаратов наблюдались ряд симптомов интоксикаций, изменения общего состояния и прочие эффекты, характеризующие токсическое действие (Таблицы 1, 2).

Таблица 1

Результаты токсического действия препарата «Кобафен» лиофилизат для приготовления раствора для инъекций с растворителем

Доза	Результат
50 мг/кг	Через 10-15 минут после введения препарата наблюдались снижение двигательной активности и скучивание в течение 5-6 часов. В дальнейшем состояние животных нормализовалось, при этом в течение всего периода эксперимента не наблюдалось гибели животных.
150 мг/кг	Через 10-15 минут после введения препарата наблюдались снижение двигательной активности, паралич и брадипноэ в течение 48 часов. На первые сутки наблюдалась гибель одной мыши, и на вторые сутки наблюдалась гибель ещё одной мыши.
200 мг/кг	Через 10 минут после введения препарата наблюдались снижение двигательной активности, паралич, судороги и брадипноэ в течение 3-4 суток. При этом на фоне данных симптомов через 1 час наблюдалась гибель одной мыши, через 3 часа наблюдалась гибель ещё одной мыши, через 6 часов наблюдалась гибель ещё одной мыши.





250 мг/кг	Через 5-10 минут после введения препарата наблюдались снижение двигательной активности, паралич, судороги и брадикардия в течение 3-4 суток. При этом на фоне данных симптомов через 1 час наблюдалась гибель двоих мышей, через 3 часа наблюдалась гибель ещё одной мыши, на вторые сутки наблюдалась гибель ещё двоих мышей.
300 мг/кг	Через 5-10 минут после введения препарата наблюдались снижение двигательной активности, паралич, судороги и брадикардия. При этом на фоне данных симптомов через час наблюдалась гибель одной мыши, через 2-3 часа наблюдалась гибель ещё троих мышей, и через 4 часа наблюдалась гибель ещё двоих мышей.

Таблица 2

Результаты токсического действия препарата «Диклоберл» раствор для инъекций, «Berlin-Chemie AG» (Menarini Group) Германия, произведено: «A.Menarini Manufacturing Logistics and Services s.r.l.» Италия

Доза	Результат
50 мг/кг	Через 20-25 минут после введения препарата наблюдались снижение двигательной активности и скучивание в течение 3-4 часов. В дальнейшем состояние животных нормализовалось, при этом в течение всего периода эксперимента не наблюдалось гибели животных.
100 мг/кг	Через 10-15 минут после введения препарата наблюдались снижение двигательной активности и брадикардия в течение 48 суток. На вторые сутки наблюдалась гибель одной мыши.
150 мг/кг	Через 10-15 минут после введения препарата наблюдались снижение двигательной активности, паралич, судороги и брадикардия в течение 2-3 суток. При этом на фоне данных симптомов через 3 часа наблюдалась гибель одной мыши, через 6 часа наблюдалась гибель ещё одной мыши, на вторые сутки наблюдалась гибель ещё двоих мышей.
200 мг/кг	Через 5-10 минут после введения препарата наблюдались снижение двигательной активности, паралич, судороги и брадикардия в течение 3-4 суток. При этом на фоне данных симптомов через 2-3 часа наблюдалась гибель двоих мышей, на вторые сутки наблюдалась гибель ещё двоих мышей, на третьи сутки наблюдалась гибель ещё одной мыши.
300 мг/кг	Через 5-10 минут после введения препарата наблюдались снижение двигательной активности, паралич, судороги и брадикардия. При этом на фоне данных симптомов через 2 часа наблюдалась гибель одной мыши, через 3-4 часа наблюдалась гибель двоих мышей, на вторые сутки наблюдалась гибель ещё двоих мышей, на третьи сутки наблюдалась гибель ещё одной мыши.

На основании полученных результатов гибели опытных животных, мы высчитывали ЛД₅₀ препаратов (Таблица

3). Если сравнить ЛД₅₀ обоих препаратов, то окажется, что разница между ними статистически достоверна.

Таблица 3



Результаты изучения показателей острой токсичности препаратов (p=0,05)

«Кобафен» лиофилизат для приготовления раствора для инъекций с растворителем, СП ООО «Jurabek Laboratories» Узбекистан		«Диклоберл» раствор для инъекций, «Berlin-Chemie AG» (Menarini Group) Германия, произведено: «A.Menarini Manufacturing Logistics and Services s.r.l.» Италия	
Доза	Количество животных погибшие/всего	Доза	Количество животных погибшие/всего
50 мг/кг	0/6	50 мг/кг	0/6
150 мг/кг	2/6	150 мг/кг	1/6
200 мг/кг	3/6	200 мг/кг	4/6
250 мг/кг	5/6	250 мг/кг	5/6
300 мг/кг	6/6	300 мг/кг	6/6
ЛД ₅₀ = 180 (141,7÷228,6) мг/кг		ЛД ₅₀ = 190 (159,7÷226,1) мг/кг	

Обсуждение полученных результатов.

Исходя из полученных данных по показателю среднесмертельной дозы, нами был определён класс токсичности по классификатору (классификатор содержит шесть уровней классификации токсичности), описанному в методическом руководстве по доклиническому исследованию лекарственных средств под редакцией Стефанова А.В. [4]. Согласно данному классификатору препарат при внутривенном введении относится четвёртому классу токсичности (Малотоксичные). Так как в классификаторе среди инъекционных путей введения дан только внутрибрюшинный путь введения, то определение класса токсичности проводилось по близкому для внутримышечного - внутрибрюшинному пути введения. При изучение клинической картины интоксикации, было установлено, что предполагаемыми органами и системами мишенями являются нервная и дыхательная система.

Полученные данные по среднесмертельной дозе показывают, что испытуемый препарат обладает такой же безвредностью, как, и препарат сравнения.

Исследование противовоспалительной активности препарата «Кобафен» лиофилизат для приготовления раствора для инъекций с растворителем

Материалы и методы исследования.

Изучение противовоспалительной активности препаратов, проводили методикой формалинового отёка лапы у животных [3,4]. Эксперименты были проведены на 18 белых беспородных крысах весом 180-200 г, с последующим разделением на группы по 6 животных в каждой.

Для этого за час до индукции воспаления животным однократно, внутримышечно (в бедренную мышцу) вводили препараты:

1. контрольная группа (контроль) – животные с тест-моделированием, но без экспозиции препарата;
2. испытуемая группа – животные получали препарат «Кобафен»



лиофилизат для приготовления раствора для инъекций с растворителем в виде 1,33% раствора, в дозе 26,6 мг/кг, в объеме 0,4 мл/200 г (вводимая проба содержит 20 мг/кг диклофенака – вводимая доза диклофенака эквивалентна дозе диклофенака препарата сравнения);

3. группа сравнения – животные получали препарат «Диклоберл» раствор для инъекций, «Berlin-Chemie AG» (Menarini Group) Германия, произведено: «A.Menarini Manufacturing Logistics and Services s.r.l.» Италия, в виде 1% раствора, в дозе 20 мг/кг, в объеме 0,4 мл/200 г.

Далее субплантарно животным каждой группы, вводили 0,1 мл 2% раствора формалина в виде водного раствора в левую заднюю лапу крысы.

Величину отека конечности измеряли онкометрически, через 2 часа и 4 часа, и для противовоспалительной активности брали данные при достижении максимума воспалительной реакции.

Критерием оценки фармакологической активности препаратов, служило уменьшение отека лапки опытных животных, по сравнению с контролем.

Результаты обработаны методом вариационной статистики по критерию Стьюдента при $p=0,05$ [3,4]. В таблицах приведены средние арифметические значения (M), соответствующие им стандартные ошибки среднего значения (m), критерий Стьюдента (t), количество выборок (n), доверительные границы (нижняя доверительная граница ÷ верхняя доверительная граница).

Результаты исследования. В процессе эксперимента было установлено, что оба препарата на 2 и 4 час наблюдения (после индукции воспаления), статистически достоверно снижают объем отека лапки, по сравнению с контролем (Таблица 4). Если сравнить экспериментальные данные обоих препаратов, то окажется, что они сопоставимы.

Таблица 4

Результаты изучения противовоспалительной активности ($M \pm m$; $n=6$; $p=0,05$)

Группа	Объем отека лапки (мл) через	
	2 ч.	4 ч.
Контроль	0,700 (0,585÷0,815)	1,017 (0,913÷1,120)
«Кобафен» лиофилизат для приготовления раствора для инъекций с растворителем, СП ООО «Jurabek Laboratories» Узбекистан	0,433 (0,306÷0,560)	0,567 (0,440÷0,694)
«Диклоберл» раствор для инъекций, «Berlin-Chemie AG» (Menarini Group) Германия, произведено: «A.Menarini Manufacturing Logistics and Services s.r.l.» Италия	0,450 (0,340÷0,560)	0,550 (0,378÷0,722)



Обсуждение полученных результатов. Полученные результаты свидетельствуют о том, что испытуемый препарат обладает достоверной противовоспалительной активностью, которая не уступает препарату сравнения.

Исследование анальгетической активности препарата «Кобафен» лиофилизат для приготовления раствора для инъекций с растворителем

Материалы и методы исследования.

Изучение анальгетической активности препаратов, проводили на модели тепловой иммерсии хвоста при погружении в горячую воду [4]. Эксперименты были проведены на 30 белых мышах (оба пола) весом 19-23 г, с последующим разделением на три группы по 10 животных в каждой.

Для этого за час до эксперимента животным опытных групп однократно, внутримышечно (в бедренную мышцу) вводили препараты:

1. контрольная группа (контроль) – без экспозиции препарата;
2. испытуемая группа – животные получали препарат «Кобафен» лиофилизат для приготовления раствора для инъекций с растворителем в виде 0,133% раствора, в дозе 26,6 мг/кг, в объёме 0,4 мл/20 г (вводимая проба содержит 20 мг/кг диклофенака – вводимая доза диклофенака эквивалентна дозе диклофенака препарата сравнения);

3. группа сравнения – животные получали препарат «Диклоберл» раствор для инъекций, «Berlin-Chemie AG» (Menarini Group) Германия, произведено: «A.Menarini Manufacturing Logistics and Services s.r.l.» Италия, в виде 0,1% раствора, в дозе 20 мг/кг, в объёме 0,4 мл/20 г.

После хвосты животных погружали в горячую воду температурой 55 °С, и регистрировали время отдёргивание хвоста. Критерием оценки фармакологической активности считали, увеличение времени реакции, по сравнению с контролем.

Результаты обработаны методом вариационной статистики по критерию Стьюдента при $p=0,05$ [4,5]. В таблицах приведены средние арифметические значения (M), соответствующие им стандартные ошибки среднего значения (m), критерий Стьюдента (t), количество выборок (n), доверительные границы (нижняя доверительная граница ÷ верхняя доверительная граница).

Результаты исследования. В результате изучения анальгетической активности испытуемого препарата было установлено, что испытуемый препарат обладает статистически достоверным анальгезирующим эффектом, однако анальгезирующий эффект испытуемого препарата достоверно больше препарата сравнения (Таблица 5).

Таблица 5

Результаты изучение анальгетической активности препаратов ($M \pm m$; $n=8$; $p=0,05$)

Группа	Время реакции (сек)
Контроль	4,90 (4,37÷5,43)
«Кобафен» лиофилизат для	14,00 (13,25÷14,75)





<p>приготовления раствора для инъекций с растворителем, СП ООО «Jurabek Laboratories» Узбекистан</p>	
<p>«Диклоберл» раствор для инъекций, «Berlin-Chemie AG» (Menarini Group) Германия, произведено: «A.Menarini Manufacturing Logistics and Services s.r.l.» Италия</p>	<p>12,10 (11,47÷12,73)</p>

Обсуждение полученных результатов. Полученные результаты свидетельствуют о том, что испытуемый препарат обладает достоверной анальгетической активностью, которая превосходит препарат сравнения, что говорит об синергизме комбинации действующих веществ испытуемого препарата.

Заключение.

Проведены доклинические исследования препарата «Кобафен» лиофилизат для приготовления раствора для инъекций с растворителем по показателям острой токсичности, противовоспалительная и анальгетической активности. В результате изучения острой токсичности было установлено, что испытуемый препарат относится к четвёртому классу токсичности

«Малотоксичные», а также было установлено, что испытуемый препарат обладает такой же безвредностью, как, и препарат сравнения.

При изучении противовоспалительная и анальгетической активности испытуемого препарата было установлено, что испытуемый препарат обладает достоверной противовоспалительной активностью, которая по противовоспалительной активности не уступает эталонному препарату, однако превосходит эталонный препарат по анальгетической активности. Последнее говорит об синергизме комбинации действующих веществ испытуемого препарата, что делает испытуемый препарат перспективным для клинического применения.

Использованная литература:

1. Шавловская О.А. Преимущества НПВП, селективных ингибиторов ЦОГ-2 в терапии болевого синдрома // Справочник поликлинического врача. 2014. № 3. С. 46–49.
2. Пахомова И.Г., Павлова Е.Ю. Нестероидные противовоспалительные средства: фокус на безопасность при выборе препарата // Consilium medicum. Неврология (прилож.). 2014. № 1. С. 30–34.
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / [под общ. ред. Р. У. Хабриева]. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Изд-во «Медицина», 2005. – 832 с.
4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / [под ред. А.Н. Миронова]. – М.: Гриф и К, 2012.– 944 с.
5. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М. Л. Беленький. – Л.: Государственное издательство медицинской литературы, 1963. – 152 с.

