

УДК 615.454.547

## К ВОПРОСУ ДОКЛИНИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ МЕЛОКСИКАМА И ЕГО ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА ЖИВОТНЫХ

Муштафин Р.А.<sup>1</sup>, Насыбуллина Н.М.<sup>1</sup>, Газеев И.А.<sup>2</sup>, Поцелуева Л.А.<sup>1</sup><sup>1</sup>ГОУ ВПО «Казанский Государственный медицинский университет»,  
Казань<sup>2</sup>ФГОУ ВПО «Казанская Государственная академия ветеринарной  
медицины» им. Н.Э.Баумана, Казань

На сегодня нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) относятся к наиболее востребованным и часто применяемым лекарственным средствам (ЛС) в лечении заболеваний опорно-двигательного аппарата. Одним из эффективных является мелоксикам (МК) - производное 1,2-бензотиазина. Создание лекарственных форм (ЛФ) для наружного применения с МК предусматривает проведение доклинических исследований, при этом для определения диапазона адекватных доз, характеризующих НПВП, важным является оценка токсичности МК и его ЛФ, в связи с чем, авторами были проведены исследования в экспериментах на животных, результаты которых представлены в данной статье.

**Ключевые слова:** НПВП, мелоксикам, доза, острая токсичность, аппликация, животные

В настоящее время актуальным остается поиск высокоэффективных ЛС, подавляющих воспаление и обладающих эффективностью при минимуме побочных реакций. К подобным относится МК [1], его пероральные ЛФ представлены на фармацевтическом рынке России, однако они обладают ulcerогенностью (от лат. слова «ulcero» - «язвенный», т.е. приводящий к изъязвлению слизистой желудочно-кишечного тракта. Поэтому целесообразным считается использование МК в ЛФ для наружного применения (собственно мази и гели) [3].

В России вопросам изыскания, освоения и производства новых ЛС и ЛФ уделяется большое внимание, успех создания которых зависит от соблюдения единых организационных принципов и подходов на всех стадиях внедрения научно-технических разработок. В связи с этим в последние годы возросли требования к проведению отдельных этапов создания новых ЛС, и, прежде всего, к стадии доклинических исследований, одним из важнейших разделов которых являются

токсикологические исследования. Программа токсикологических исследований предусматривает проведение экспериментов на различных видах лабораторных животных для оценки общетоксического действия новых ЛС и ЛФ и разработку мероприятий по терапии интоксикаций, связанных с передозировкой или повышенной чувствительностью к препарату. Одним из этапов оценки общетоксического действия новых ЛС и ЛФ является изучение их острой и хронической токсичности [4,6,8].

**Целью исследования** явилась оценка острой и хронической токсичности МК в экспериментах на животных.

### **Материалы и методы исследования**

Объектами исследования являлись образцы субстанции МК и его ЛФ для наружного применения (собственно мази и гели).

Острая токсичность – вредное действие ЛС, проявляющееся после его однократного применения или повторного введения через короткие интервалы времени в течение суток, для определения переноси-

мых, токсических и летальных доз ЛС и причин наступления гибели животных.

Хроническая токсичность характеризуется степенью повреждающего действия ЛС при его длительном введении, выявление наиболее чувствительных органов и систем организма животных, а также исследование степени обратимости вызываемых им повреждений.

Исследования по оценке острой и хронической токсичности МК и его ЛФ проводили на базе ЦНИЛ КГМУ и на кафедре фармакологии ФГОУ ВПО КГАВМ им. Н.Э.Баумана и с соблюдением правил программы доклинических испытаний по оценке безопасности потенциальных ЛС. Все животные содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к пище и воде с периодом акклиматизации не менее 2-х недель и лишались пищи и воды за 12 часов до начала эксперимента [4,6]. В опытах по оценке острой токсичности использовали 50 белых крыс массой 250-280 г и 50 белых мышей массой 20-26 г обоего пола одинакового возраста, которым однократно внутрижелудочно с помощью зонда (шприца с инъекционной иглой с напаянным оловом на конце) вводили МК. В виду того, что МК не растворим в воде, последний вводили в виде суспензии в 2 %-й крахмальной слизи (смешивали МК со слизью в различных пропорциях: 1:2; 1:10; 1:15 и 1:20). Животных делили на 5 групп – 4 опытные и 1 контроль (по 10 в группе). Всем 4-м группам (мышам вводили в дозе 0,5 мл, а крысам в дозе 5 мл на голову) однократно вводили описанным выше способом суспензию с МК в различных пропорциях: 1-й группе животных вводили суспензию МК в пропорции 1:2 (мышам в дозе 12500 мг/кг, крысам - 9100 мг/кг); 2-й группе вводили в пропорции 1:10 (мышам в дозе 2500 мг/кг, крысам -1900 мг/кг); 3-й группе в пропорции 1:15 (мышам в дозе 1500 мг/кг, крысам -1300 мг/кг), 4-й группе в пропорции 1:20 (мышам в дозе 1200 мг/кг, крысам -1000 мг/кг). В контроле животным однократно вводили крахмальную слизь без МК в тех же объемах. В течение 10 дней за опытными животными вели наблюдение. Учитывали массу животных до и после введения МК, состояние

волосяного покрова, слизистых оболочек, подвижность, отношение к корму, время возникновения и характер интоксикации, её тяжесть и обратимость, сроки гибели или их выздоровления.

Хроническую токсичность МК определяли на 20 белых крысах разделенных на опытную и контрольную группы (в каждой по 10 крыс). В течение 30 дней 1 раз в сутки опытной группе животных при помощи зонда внутрь вводили МК в виде суспензии (с 2 % крахмальной слизью в пропорции 1:10) по 0,6 мл в дозе 1/10 от ЛД<sub>50</sub> (т.е. в дозе 208 мг/кг). Контрольным животным назначали крахмальную слизь без добавления МК в тех же объемах (0,6 мл). За животными вели постоянное наблюдение в течение месяца. В ходе проведения опытов оценивали общее состояние животных, характер приема корма и воды, время возникновения и характер интоксикации.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Microsoft Excel. Достоверность устанавливали по методу Стьюдента-Фишера [5,7].

#### **Результаты исследований и их обсуждение**

В ходе работы по оценке острой токсичности в опытах на животных обнаружено, что после введения МК в пропорции 1:2 через 30 минут у животных наступало угнетённое состояние. Реакция на внешние раздражители (шум, свет, тактильные, болевые) имелись, но были слишком выраженными, животные неохотно принимали корм, дыхание было поверхностным и учащённым. Спустя 2 часа с момента введения МК общее состояние становилось неудовлетворительным, животные находились в лежачем состоянии, передвигались с трудом, что говорило о явном выраженном угнетении. Через 4 часа все животные погибали от угнетения дыхания. При вскрытии погибших животных обнаруживали полнокровие внутренних органов. Почки, печень были без видимых изменений, слизистые желудка и кишечника без кровоизлияний и эрозий, а содержимое кашицеобразной консистенции, местами с уплотнениями, окрашенное в жёлтый цвет (цвет самого МК). При введении суспензии из МК в пропорции 1:10 у

животных наблюдалась такая же картина, как и в случае с животными 1-й группы, за исключением времени проявления токсического отравления. Угнетение проявлялось через 1 час после введения МК, а гибель 80% животных (от общего числа животных в данной группе) наступала в течение 15-18 часов на фоне судорог от угнетения дыхания. Вскрытие погибших животных 2-й группы показало полнокровие внутренних органов. Почки, печень были без изменений, слизистые желудка и кишечника без кровоизлияний, эрозий и язв, а содержимое кашицеобразной консистенции, местами уплотнено. В тонком отделе кишечника МК обнаруживался в наибольшем количестве. При введении суспензии МК животным 3-й группы в пропорции 1:15 у экспериментальных животных через 2 часа наступало угнетённое состояние, характеризующееся вялостью, пребыванием в лежачем состоянии, поверхностным и учащённым дыханием, при этом животные охотно принимали корм и воду. Реакция на внешние раздражители (шум, свет, тактильные, болевые) становилась неадекватными, более выраженными. Спустя сутки погибали 60-70 % крыс и мышей. Патологическая картина вскрытия погибших животных была аналогичной картине гибели животных во 2-й группе. Спустя первые сутки у выживших животных после введения МК общее состояние постепенно приходило в норму,

животные были более подвижными и активными, хорошо принимали корм и воду. Волосистой покров животных был достаточно чистым, но отмечалась его матовость. Слизистые оболочки глаз и рта были розового цвета. На протяжении опыта, в 3-й опытной группе среди оставшихся животных летальных исходов не наблюдалось. При введении 4-й группе животных суспензии с МК в пропорции 1:20 угнетённое состояние у животных наступало через 2 часа, но через 4 часа с момента введения МК общее состояние становилось удовлетворительным, животные были более активны, однако в сравнении с контролем наблюдалось выраженное угнетение. В течение всего времени наблюдения мыши и крысы после первых суток отличались от 3-х первых опытных групп животных активностью и подвижностью, хорошим приемом корма и воды. Волосистой покров животных был достаточно чистым, с матовым оттенком. Слизистые оболочки глаз и рта были в норме. На протяжении опыта, как в контроле, так и в 4-й опытной группе животных летальных исходов не обнаруживалось. Определение параметра острой токсичности МК для мышей и крыс проводили по методу Кербера (1931).

Дозу вещества, вызывающую гибель половины животных ( $LD_{50}$ ) рассчитывали по формуле:

$$LD_{50} = D - \frac{\sum (zd)}{n}$$

где  $D$  – доза, вызывающая гибель всех животных ( $LD_{100}$ ),  $\sum$  – знак суммирования,  $z$  – половина суммы числа животных, погибших от двух последующих доз,  $d$  – разница значений доз, стоящих рядом,  $n$  – число животных в каждой группе.

Определение параметра острой токсичности МК по Керберу для белых мышей и крыс показало, что полумлетальная доза ( $LD_{50}$ ) для мышей равна 2110 мг/кг, а для крыс – 2085 мг/кг.

Результаты изучения хронической токсичности МК показали, что использование крысами МК в дозе 208 мг/кг (0,6 мл суспензии в пропорции 1:10) 1 раз в сутки в течение 30 дней не вызывало каких-либо

нарушений со стороны общего состояния животных. Крысы охотно принимали корм и воду, признаки интоксикации отсутствовали. Волосистой покров был чистым и блестящим, видимые слизистые оболочки были розовыми без признаков воспаления и раздражения и не имели явных отличий в сравнении с контролем. В конце эксперимента по 3 крысы из каждой группы забивались для исследования патологических изменений в органах и тканях. Видимых изменений по отношению к контролю во всех внутренних органах и тканях животных не обнаруживалось. Тем самым, результаты исследований на хроническую токсичность МК показали, что многократ-

ное введение суспензии МК в указанной выше дозе не вызывает гибели животных опытной группы и существенных отклонений от нормального состояния.

**Вывод:** опытные животные обоего пола одинаково чувствительны к токсическому действию МК. По параметрам острой и хронической токсичности на животных согласно ГОСТу 12.1.007-76 МК может быть отнесён к классу малотоксичных веществ [2].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Годзенко А.А. Перспективы применения мелоксикама в лечении суставных синдромов / Русский медицинский журнал, 2006. – Т. 14. – № 25. – С. 1846–1848.
2. ГОСТ 12.1.007.-76 «Межгосударственный стандарт. Система стандартной безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности».- Москва, 1999.- ИПК издательство «Стандарт».

3. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. – 11-е изд., доп. – М.: «Медицина», 1990. – 400 с.– С. 145.

4. Елизарова О.Н., Жидкова Л.В., Кочеткова Т.А. Пособие по токсикологии для лаборантов. Москва: издательство «Медицина», 1974. - 168 с.

5. Лактин Г.Ф. Биометрия. [Учеб. Пособ. для биол. спец. ВУЗов] – 4-е изд., перер. и доп. – Москва: Издательство «Высш. шк.», 1990. – 351 с.

6. Методические рекомендации по изучению общетоксического действия фармакологических средств – Москва, 1997.

7. Тукшаитов Р.Х. Основы динамической метрологии и анализа результатов статистической обработки (биология, медицина, химия, физика). – Казань, 2001 – С. 282.

8. Фисенко В.П. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2000. – 238 с.

#### PRECLINICAL (NON-CLINICAL) STUDYING OF MELOXICAM AND ITS MEDICINAL FORMS IN EXPERIMENTS ON ANIMALS

Mustafin R.A.<sup>1</sup>, Nasibullina N.M.<sup>1</sup>, Gazeev I.A.<sup>2</sup>, Potselueva L.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Kazan Medical University*

<sup>2</sup>*Kazan state academy of veterinary medicine named of N.E. Bauman*

Today NSAIDs (nonsteroidal antiinflammatory drugs) relate to most popular and frequently used drugs applied for treatment of musculoskeletal system diseases. One of these effective and harmless drugs is meloxicam (MX) (1,2 - benzothiazine derivative) and its dosage forms (DF) for outward application, creation of which involves determination of adjusting dosage range characterizing the NSAIDs. The most important factor at the stage of NSAIDs pharmacological study is the MX toxicity assessment. In this connection the authors carried out these experiments on animals. The results of these experiments are represented in the present article.

Keywords: nonsteroidal antiinflammatory drugs, toxicity assessment, experiments on animals, pharmacological study.