

Додаток 29  
 до Порядку проведення експертизи  
 реєстраційних матеріалів на лікарські  
 засоби, що подаються на державну  
 реєстрацію (перереєстрацію), а також  
 експертизи матеріалів про внесення  
 змін до реєстраційних матеріалів  
 протягом дії реєстраційного  
 посвідчення  
 (пункт 4 розділу IV)

**ЗВІТ**  
**про доклінічні дослідження**

1. Назва лікарського засобу (за наявності - номер реєстраційного посвідчення):	Дексалгін® розчин оральний
1) тип лікарського засобу, за яким проводилася або планується реєстрація	<ul style="list-style-type: none"> <li>• зміни, що потребують нової реєстрації</li> <li>• зміни сили дії, лікарської форми та способу застосування</li> <li>• зміна або додавання нової лікарської форми</li> </ul>
2) проведені дослідження	<b>Х так</b> ні якщо ні, обґрунтувати
2. Фармакологія:	<p>Експерименти проводилися на чоловічих мишах альбіносах швейцарської породи для вимірювання температури тіла; чоловічих щурах альбіносах породи Вістар для моторної активності та ЕЕГ-експериментів, і чоловічих щурах Спрейг-Доулі для вимірювання діурезу. Моторна активність вимірювалася таким чином: 1) загальна активність: будь-який рух зі стартового положення, більший за половину довжини щура. 2) обмежена активність: всі інші дії, записані всередині уявної форми щура, наприклад, догляд за собою. 3) вертикальна активність: всі рухи, що перевищують набір вертикальних фотоелементів. 4) тривалість неподвижності: загальний час бездіяльності. Температура тіла. Ректальна температура вимірювалася шляхом введення термісторного датчика в пряму кишку щура протягом приблизно 20 секунд до стабілізації показань температури. Кортико-ЕЕГ активність: Експерименти проводилися з 25 щурами, що вільно рухаються, яким були хронічно імплантовані електроди. Чотири електрода розміщувалися в отворах, просвердлених в черепі, симетрично і білатерально на відстані 2 мм від сагітального шва. Два отвори були розміщені на 2 мм за коронарним швом, і ще два - на 2 мм перед лямбдоїдним швом. У розглянутому ЕЕГ-періоді враховувалися наступні параметри, а їх тривалість оцінювалася у секундах активності. 1) хвильові викиди: ЕЕГ коливання у широкому діапазоні напруги з частотою 4-5 циклів/с. 2) Шипи та хвильові викиди: характеризуються комплексами</p>

	<p>ЕЕГ тривалістю 2-20 с з високою десинхронізацією та сумішню хвильових викидів і шипів (амплітуда 2-4 рази більша, ніж в спокійному стані). Діурез: У день експерименту тварини усним шляхом отримували транспортний засіб або тестові сполуки (LM -1158 або LM -1159), а через годину їх навантажували фізіологічним розчином (10 мл/кг ор.). Сечу збирали, а її об'єм вимірювали протягом наступних часових інтервалів: 0-2 год; 2-8 год, 8-24 год. Концентрації натрію та калію в сечі визначали за допомогою фотометра.</p> <p>Результати:</p> <p>а) Локомоторна активність. Як LM -1158, так і LM -1159 у дозах 100 мг/кг не змінювали локомоторну активність щурів (загальна, обмежена та вертикальна активність, тривалість неподвижності та швидкості) протягом періодів між 15-24 хвилиною та 30-39 хвилиною після прийому препарату.</p> <p>б) Вплив на ректальну температуру: LM -1158 у дозі 50 мг/кг не впливав на ректальну температуру ні через 15, ні через 30 хвилин. LM -1159 спричинив слабку та тимчасову гіпертермію у дозі 50 мг/кг.</p> <p>с) Вплив ЕЕГ на базальну активність: ані LM-1158, ані 1159 у дозах 50 мг/кг не змінювали базальні показники ЕЕГ у щурів. При більш високих дозах обидві сполуки викликали зміни ЕЕГ у формі перепадів хвиль, які не поєднувалися з явними поведінковими змінами. D) Про/протисудомна активність на ЕЕГ: Потенційний проти/проконвульсивний ефект LM-1158 і LM-1159 оцінювали шляхом оцінки впливу на зміни ЕЕГ, спричинені субконвульсивними дозами пентилентатразолу (PTZ). І LM-1158, і LM-1159 у дозах 100 мг/кг значно потенціювали тривалість періоду хвильових розрядів, індукованих PTZ. Цей ефект ЕЕГ не був пов'язаний з появою епілептичної поведінки. е) вплив на діурез: у дозі 50 мг/кг LM-1158 не мав істотного впливу на об'єм виділеної сечі, але значно знижував натрійурез і калійурез. При дозі 100 мг/кг спостерігалось явне зменшення кількості сечі, що виділяється в лаг-період 8-24 години. Що стосується LM-1159, його вплив на діурез був подібним до тих, що спостерігалися з його енантіомером.</p>
<p>1) первинна фармакодинаміка</p>	<p><b>Інгібування синтезу тромбоксану В2 у тромбоцитах кроликів LM-1158 (декскетопрофен)</b></p> <p>Дослідження проводили на самцях новозеландських білих кролів вагою 2,5-4 кг. Тварин анестезували 3% фенобарбіталом натрію, розсікаючи сонну артерію, щоб канюлювати її та продовжити повне знекровлення тварини. Кров кроликів використовували для отримання збагаченої тромбоцитами плазми (PRP), робочого субстрату дослідження. Підрахунок тромбоцитів проводили за допомогою оптичного мікроскопа, а результати виражали як кількість тромбоцитів/μл плазми.</p> <p>Синтез ТХВ2 у PRP був індукований за допомогою арахідонової кислоти. Попередню інкубацію та індукцію процесів проводили в умовах контрольованого перемішування та температури. Через 5 хвилин після додавання арахідонової кислоти 500μДля полегшення осадження білка до інкубаційних зразків додавали л 2% мурашиної кислоти. ТХВ2 визначали за допомогою імунологічного аналізу (EIA). За результатами, отриманими за допомогою EIA, було розраховано нанограми тромбоцитів ТХВ2/106, які використовувалися для розрахунку відсотків інгібування відносно</p>

контрольної групи; значення були нанесені на графік залежно від концентрації. IC50 для кожного лікування оцінювали шляхом інтерполяції з діаграми. Для кожного досліджуваного продукту використовували такі концентрації: 1) LM-1158 (декскетопрофен): від 10-9 М до 10-5 М, 2) Кетопрофен: від 10-8 М до 10-5 М 3) R-(-)-кетопрофену від 5\*10-8М до 10-4М.

Результати:

- 1) LM-1158 пригнічує синтез ТХВ2 у тромбоцитах кролика зі значенням IC50 0,16мкМ.
- 2) Значення IC50, отримане для рацемічного кетопрофену, становить 0,40мкМ.
- 3) IC50значення, отримане для R-(-)-кетопрофену, становить 4,38 мкМ.

Відносна ефективність LM-1158, рацемічного кетопрофену та R-(-)-кетопрофену становить 100, 40 та 3,7 відповідно.

**Взаємодія сполук LM-1158 (декскетопрофен) і LM-1159 (R-(-)-кетопрофен) з циклооксигеназою тромбоцитів і моноцитів людини та її інактивацією аспірином.**

Венозну кров отримували від здорових добровольців, які не приймали жодних ліків принаймні за 10 днів до венепункції. Збагачену тромбоцитами плазму (PRP) отримували стандартним диференціальним центрифугуванням. Агрегацію досліджували на агрегометрі Chrono-log на 0,4 мл зразків відмитих тромбоцитів. Додавали фібриноген у кінцевій концентрації 0,28 мг/мл. Потенційні інгібітори додавали до зразків за 2 хв до стимуляції арахідоною кислотою. Біотрансформацію ТХВ2 і PGE2 оцінювали через 3 хв після додавання стимулятора.

Моноцити виділяли наступним чином: венозну кров людини антикоагулянтували, а збагачену лейкоцитами плазму готували шляхом осадження декстрану. Інтерфейсне кільце, що містить моноцити, центрифугували при 400хg протягом 10 хв. Клітинну суспензію поміщали в чашки Петрі та інкубували протягом 1 години перед стимуляцією. Моноцити стимулювали додаванням іонофору кальцію A23187 (10μМ). ТХВ2 і PGE2 вимірювали за допомогою радіоімунного аналізу. Результати виражаються в нг/мл.

Результати:

Вплив LM-1158 і LM-1159 на агрегацію тромбоцитів, спричинену арахідоною кислотою: суспензії тромбоцитів, які агрегували в присутності арахідонової кислоти, використовували для вивчення ефектів LM-1158 і LM-1159. LM-1158 і LM-1159 поступово зменшували агрегацію арахідонової кислоти до повної блокади. Інгібування LM-1158 відбувалося при нижчій концентрації порівняно з його ізомером LM-1159 та індометацином. Їхні IC50 становили 0,03, 1 і 0,3μМ відповідно. Навпаки, за подібних умов обидва препарати не змогли інгібувати агрегацію, індуковану U46619, стабільним аналогом PGE2. За винятком вищої концентрації, LM-1158 і LM-1159 не перешкождали агрегації після видалення з тромбоцитарного середовища. Навпаки, як і очікувалося,

аспірин (50 $\mu$ M) інгібування агрегації арахідоною кислотою після її видалення із суспензії. При додаванні будь-якого препарату безпосередньо перед арахідоною кислотою інгібування не спостерігалось.

Вплив LM-1158 і LM-1159 на генерацію TXB<sub>2</sub> і PGE<sub>2</sub> під час активації тромбоцитів, індукованої арахідоною кислотою: обидві сполуки інгібували індуковану арахідоною кислотою генерацію TXB<sub>2</sub> з подібною дією, ніж інгібування індукованої арахідоною кислотою агрегації тромбоцитів. LM-1158 був приблизно в 50 разів сильнішим за LM-1159 і приблизно в 10 разів сильнішим за індометацин. Утворення PGE<sub>2</sub> також пригнічувалося обома препаратами в однаковому діапазоні концентрацій. LM-1158 інгібував утворення TXB<sub>2</sub> у концентраціях у мікромольному діапазоні, тоді як LM-1159 робив це у 10-100 разів вищих концентраціях.

Взаємодія LM-1158 і LM-1159 з аспірином та індометацином: порівняння з саліциловою кислотою: коли аспірин (50 $\mu$ M) додавали до суспензій тромбоцитів, попередньо інкубованих з LM-1158 (0,01-0,1 $\mu$ M), LM-1159 (0,3-1 $\mu$ M) або саліцилової кислоти (0,3-1 мМ), інгібування не спостерігалось. Пригнічення антиагрегантної дії аспірину було виявлено лише при 0,3 і 3 $\mu$ M LM-1158 і LM-1159 відповідно. Навпаки, LM-1158 (0,3 $\mu$ M) і його ізомер (3 $\mu$ M) не вдалося запобігти пригніченню дії арахідоною кислотою індометацином за умов, коли саліцилова кислота залишалася ефективною.

#### **Інгібування синтезу тромбоксану B<sub>2</sub> у поліморфноядерних лейкоцитах периферичної крові людини, стимульованих кальцієвим іонофором A23187**

Дослідження проводили на поліморфно-ядерних лейкоцитах людини периферичної крові здорових донорів. Отримання поліморфноядерної багаті фракції проводили центрифугуванням у градієнті щільності Фіколла після максимального видалення фракції еритроцитів інкубацією та осадженням у 6% декстрані з подальшим кількома промиваннями у буферному розчині Хенка. Використовували аліквоти по 1 мл, працюючи при концентрації клітин 106 клітин/мл. Експеримент був розроблений для одночасного тестування різних концентрацій досліджуваних сполук, базового рівня (без кальцієвого іонофору) і позитивного (з кальцієвим іонофором) контролю, все в трьох повторах. Концентрації обох агоністів (10 $\mu$ M) і час інкубації клітин (10 хв) були обрані на основі попередніх досліджень.

У зразки, призначені для перевірки інгібування синтезу TXB<sub>2</sub>, стимульованого іонофором кальцію, досліджувану сполуку LM-1158 (декскетопрофен) вводили перед стимулом, так що клітини попередньо інкубували з інгібітором протягом 30 хв. Таку саму процедуру виконували з кетопрофеном і енантіомером R-(-)-кетопрофеном. Використовували іонофор кальцію A23187 у концентрації 10 $\mu$ M. Дія іонофору кальцію становила 10 хв. Відразу після зупинки реакції зразки центрифугували для видалення клітинної фракції. Зібрані надосадкові рідини зберігали при -80°C до виконання відповідного імуноаналізу TxB<sub>2</sub>.

**Результати:**

Інгібування, спричинене сполукою LM-1158 у синтезі тромбоксану B<sub>2</sub>, вимірювали порівняно з рацемічним кетопрофеном та його енантіомером R-(-), використовуючи людські поліморфноядерні лейкоцити периферичної крові, стимульовані іонофором кальцію A23187. Діапазони концентрацій, що використовуються для кожного досліджуваного продукту, були такими: 1) від 1 пМ до 1 нМ для LM-1158, 2) від 2 пМ до 2 нМ для кетопрофену, 3) від 1 нМ до 1 μМ для енантіомеру r-(-).

Значення IC<sub>50</sub> для LM-1158 у цій моделі *in vitro* становить 0,1 нМ.

Значення IC<sub>50</sub> для кетопрофену в цій моделі *in vitro* становить 0,4 нМ

Значення IC<sub>50</sub> для енантіомеру R-(-) у цій моделі *in vitro* становить 300 нМ.

**Інгібування синтезу простагландину E<sub>2</sub> у культивованих ендотеліальних клітинах людини, стимульованих тромбіном.**

Дослідження проводили з ендотеліальними клітинами, отриманими в стерильних умовах з вен пуповини шляхом обробки колагеназою. Отриману клітинну фракцію підтримували в культурі над желатиновою матрицею. Використовували бляшки з 24 лунками, в які клітини з першої або другої субкультури висівали на 0,1% желатинову основу. Вміст бляшок був розроблений таким чином, щоб різні концентрації сполуки та вихідні (без стимуляції) і позитивні (з тромбіном) контролю, усі в двох примірниках, тестувалися паралельно. Що стосується використовуваної концентрації агоніста, використовували 2 NIH\*U/мл. Тромбін з плазми людини використовували в концентрації 2 NIH U/мл. У лунки, призначені для дослідження інгібування синтезу PGE<sub>2</sub>, стимульованого тромбіном, досліджувану сполуку LM-1158 (декскетопрофен) вводили відразу після стимулу, так що агоніст та інгібітор піддавали процесу спільної інкубації. Таку саму процедуру використовували для рацемічного кетопрофену та його енантіомеру R-(-)-кетопрофену.

Після 10 хвилин інкубації зразки центрифугували для видалення решти клітин. Супернатанти різних тестів потім збирали та зберігали до проведення радіоімунного аналізу PGE<sub>2</sub>. Діапазони концентрації, що використовуються для кожного продукту, були такими: -від 10 до 100 нМ для LM-1158, -від 10 до 1000 нМ для рацемічного кетопрофену, - від 100 нМ до 50 μМ для енантіомеру R-(-)-кетопрофену.

Результати: Значення IC<sub>50</sub> для LM-1158 у цій моделі *in vitro* становило 10 нМ. Значення IC<sub>50</sub> для рацемічного кетопрофену в цій моделі *in vitro* становило 20 нМ. Значення IC<sub>50</sub> для енантіомеру R-(-)-кетопрофену було вище 50 μМ; дійсно, гальмування досягло максимуму на 5 μМ.

**Інгібування синтезу простагландину E<sub>2</sub> у культивованих ендотеліальних клітинах людини, стимульованих іонофором кальцію A23187**

Дослідження проводили з ендотеліальними клітинами людини, отриманими в стерильних умовах з вен пуповини шляхом обробки

колагеназою. Отриману фракцію клітин зберігали в культурі над желатиноювою матрицею. Використовували бляшки з 24 лунок, в які на основі 0,1% желатину висівали клітини з першої чи другої субкультури згідно зі стандартними методиками. Вміст бляшки був розроблений таким чином, щоб різні концентрації сполуки, вихідний рівень (без стимуляції) і позитивний (з кальцієвим іонофором) контроль, усі в двох примірниках, тестувалися одночасно. Концентрація іонофору кальцію A23187 становила 2 $\mu$ M. LM-1158 (декскетопрофен) додавали одразу після цього, щоб агоніст та інгібітор пройшли процес спільної інкубації. Після 30 хвилин інкубації зразки центрифугували для видалення залишків клітин. Супернатанти з різних тестів збирали та зберігали до проведення радіоімунного аналізу PGE<sub>2</sub>. Після отримання індивідуальних значень інгібування, середнє значення та відхилення були розраховані для кожної перевіреної концентрації. Діапазони концентрацій, що використовувалися для досліджуваних продуктів, були такими: 1) - від 0,5 нМ до 0,5 $\mu$ M для LM-1158, 2) – від 10 нМ до 1 $\mu$ M для кетопрофену і 3)-від 0,5 $\mu$ M до 50 $\mu$ M для енантіомеру R-(-)-кетопрофену.

Результати. Значення IC<sub>50</sub> LM-1158 становило 15 нМ. Значення IC<sub>50</sub> кетопрофену становило 30 нМ. Значення IC<sub>50</sub> R-(-)-кетопрофену становило 500 нМ.

#### **Інгібування синтезу простагландину E<sub>2</sub> у культивованих кератиноцитах людини, стимульованих гістаміном**

Дослідження проводили з людськими кератиноцитами з біоптатів пластичної хірургії. Клітини зберігали в культурі над желатиноювою матрицею і використовували для експериментів у 8-денних субкультурах. Використовували бляшки з 6 лунками, в які 3 $\times$ 10<sup>4</sup> клітин/см<sup>2</sup> висівали на 0,1% желатинову основу. Вміст бляшки був розроблений таким чином, щоб різні концентрації сполуки та вихідні (без стимуляції) і позитивні (з гістаміном) контролю, усі в двох примірниках, тестувалися одночасно. Концентрація гістаміну була 10 $\mu$ M. У лунки, призначені для вивчення інгібування синтезу PGE<sub>2</sub>, стимульованого гістаміном, досліджувану сполуку LM-1158 (декскетопрофен) вводили одночасно до стимулу, так що агоніст та інгібітор пройшли процес спільної інкубації. Таку саму процедуру використовували для рацемічного кетопрофену та його енантіомеру R-(-)-кетопрофену. Після однієї години інкубації зразки центрифугували для видалення клітин, що залишилися. Супернатанти з різних аналізів потім збирали та зберігали до виконання відповідного імунологічного аналізу PGE<sub>2</sub>. Для кожного клітинного аналізу та на основі рівнів PGE<sub>2</sub>, виражених як пг/10<sup>5</sup> клітин, відсоток інгібування розраховували з відповідного значення позитивного контролю. Діапазони концентрації, що використовувалися для кожного продукту, були такими: 1) - від 0,5 нМ до 0,5 $\mu$ M для LM-1158, 2) - від 1 нМ до 1 $\mu$ M для кетопрофену, 3)-від 100 нМ до 100 $\mu$ M для енантіомеру R-(-)-кетопрофену.

Результати. Значення IC<sub>50</sub> для LM-1158 становило 10 нМ. Значення IC<sub>50</sub> рацемічного кетопрофену становило 50 нМ. Значення IC<sub>50</sub> енантіомеру R-(-)-кетопрофену становило 10 $\mu$ M.

#### **Інгібування синтезу простагландину E<sub>2</sub> у культивованих мишачих макрофагах P388D1, стимульованих іонофором кальцію A23187**

Дослідження проводили на мишачих макрофагах клітинної лінії P388D1, отриманих з Американської колекції типових культур (ATCC). Клітини зберігали в культурі та використовували для експериментів у 24-годинних субкультурах. Використовували бляшки з дванадцяти лунок, в які висівали клітини в концентрації  $4 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup>. Вміст бляшок був розроблений таким чином, щоб різні концентрації сполуки та базовий рівень (без стимуляції) і позитивний (з кальцієвим іонофором) контролю, усі в двох примірниках, тестувалися одночасно. Використовували іонофор кальцію в концентрації 5 мкМ. У лунки, призначені для вивчення інгібування синтезу PGE<sub>2</sub>, стимульованого іонофором кальцію, LM-1158 (декскетопрофен) вводили одночасно, так що агоніст та інгібітор слідували за процесом спільної інкубації. Таку саму процедуру використовували для рацемічного кетопрофену та його енантіомеру R-(-)-кетопрофену. Після 4 годин інкубації зразки центрифугували для видалення клітин, що залишилися. Супернатанти з різних тестів потім збирали та зберігали до виконання відповідного імуоферментного аналізу PGE<sub>2</sub>. Для кожного клітинного аналізу та на основі рівнів PGE<sub>2</sub>, виміряних у нг.мл-1, розраховували відсотки інгібування від відповідного значення позитивного контролю. Для кожного випробовуваного продукту використовувалися такі діапазони концентрацій: 1)- від 5 нМ до 5 мкМ для LM-1158, 2)- від 10 нМ до 10 мкМ для кетопрофену та 3)- від 50 нМ до 50 мкМ для енантіомеру R-(-)-кетопрофену.

Результати: Значення IC<sub>50</sub> для LM-1158 становило 100 нМ. Значення IC<sub>50</sub> для рацемічного кетопрофену становило 80 нМ. Значення IC<sub>50</sub> для енантіомеру R-(-)-кетопрофену становило 7 мкМ.

#### **Інгібування LM-1558 (декскетопрофеном) агрегації, індукованої арахідоною кислотою, у тромбоцитах кроликів**

Дослідження проводили на самцях новозеландських білих кролів вагою 2,2-4,2 кг. На початку дослідження тварин анестезували 3% фенобарбіталом натрію, розсікаючи сонну артерію для її канюляції та продовжуючи повне знекровлення тварини. Кров кроликів використовували для отримання збагаченої тромбоцитами плазми (PRP). Кров збирали в пластикові пробірки з 3,2% розчином цитрату натрію. Зразки центрифугували при 900 об/хв протягом 10 хв. Підрахунок тромбоцитів проводили за допомогою оптичного мікроскопа, а результати виражали як кількість тромбоцитів/мл плазми. Техніка, використана для вимірювання інгібування агрегації тромбоцитів, індукованої арахідоною кислотою, була турбідиметричним тестом, заснованим на зміні пропускання світла в результаті утворення тромбоцитарних агрегатів. Після додавання арахідонової кислоти фотометричні зміни реєстрували у вигляді безперервного графіка агрегометром. Відсоток інгібування агрегації тромбоцитів розраховували на основі кожного окремого результату, отриманого в присутності сполук, і середнього значення агрегації, отриманого в зразках, де попередню інкубацію проводили з носієм за відсутності сполуки.

Результати: відсоток інгібування агрегації для LM-1158 становив  $69,7 \pm 10,2$  (середнє  $\pm$  SD, n=18) при 10 мкМ. Відсоток інгібування агрегації R-(-)-енантіомеру кетопрофену становить  $9,7 \pm 13,5$  (середнє значення  $\pm$  SD, n=16) при 10 мкМ.

### Стереоселективне інгібування індукованої циклооксигенази декскетопрофеном

Вивчено стереоселективний ефект декскетопрофену (LM-1158 проти R-(-)-кетопрофену) на активність конститутивної (ЦОГ-1) та індукційної циклооксигенази (ЦОГ-2) у цільній крові морської свинки, лейкоцитах периферичної крові людини. (ЦОГ-1), стимульовані ліпополісахаридом (ЛПС) моноцити людини (ЦОГ-2) і очищений препарат із насінневих бульбашок барана (ЦОГ-1) або плаценти овець (ЦОГ-2). Цільну кров морської свинки брали за допомогою пункції серця. Аліквоти 1 мл цільної крові переносили в скляні пробірки і залишали для згортання протягом 60 хвилин у присутності різних концентрацій досліджуваної сполуки декскетопрофену або носія. Сироватку відокремлювали центрифугуванням і аналізували на ТХВ2 за допомогою специфічного імуноферментного аналізу (ЕІА). Виробництво ТХВ2 у цільній крові вимірювали як відображення максимально стимульованої активності циклооксигенази тромбоцитарної ЦОГ-1 ендогенно утвореним тромбіном. Внесок тромбоцитарної ЦОГ-1 пригнічувався додаванням ацетилсаліцилової кислоти в момент часу 0. Ефект інгібіторів вивчався шляхом інкубації кожного препарату в різних концентраціях. Лейкоцити периферичної крові людини були виділені з концентратів, отриманих з місцевих центрів збору крові. Клітинну суспензію витримували 1 годину для осідання еритроцитів. Супернатант, що містить лейкоцити, і плазму розділяли центрифугуванням. Осад, збагачений лейкоцитами, ресуспендували та очищали центрифугуванням у Ficoll Biobrom. Аліквоти клітинної суспензії інкубували з інгібітором або носієм перед початком стимуляції іонофором кальцію А23187. Інкубацію припиняли через 10 хвилин. Концентрацію ТХВ2 вимірювали специфічним імуноаналізом (ЕІА). До кожного експерименту були включені бланки та контролю транспортно засобу. Усі тести та контролю проводили в трьох повторях. Очищені (>96%) ізольовані моноцити людини ( $3 \cdot 10^6$  клітин/мл) інкубували протягом 24 годин при 37 °С у присутності LPS (10µг/мл) і різні концентрації досліджуваних елементів перед вимірюванням рівнів PGE2 за допомогою імунологічного аналізу. Очищені ферментативні препарати ЦОГ-1 з насінневих бульбашок барана або препарати ЦОГ-2 з плаценти овець інкубували з [3H]-арахідоновою кислотою та мічені радіоактивним ізотопом простагландину вимірювали за допомогою сцинтиляційного підрахунку.

Результати. У моделі цільної крові морської свинки обидва ізоферменти пригнічувалися декскетопрофеном: IC<sub>50</sub>, отриманий для ЦОГ-2 і ЦОГ-1, становив 0,025µМ і 0,053µМ відповідно проти 4,0µМ і 5,7µМ R-(-)-кетопрофену. В інтактних клітинах обидва ізоферменти також були інгібовані декскетопрофеном. Отримані значення IC<sub>50</sub> становили 0,026µМ для моноцитів людини (ЦОГ-2) і 0,002µМ для поліморфноядерних лейкоцитів людини (ЦОГ-1) проти 2,9 µкМ і 0,69 R-(-)-кетопрофену. У моделі ізольованих ферментів обидва ізоферменти також були інгібовані декскетопрофеном. IC<sub>50</sub> значення, отримані для ЦОГ-2 з плаценти овець і ЦОГ-1 з насінневих бульбашок барана, становили 4,9 µкМ і 0,027 µкМ відповідно, проти >100 µкМ і 1,3 µкМ R-(-)-кетопрофену.

### Стереоселективне інгібування $PGF_{2\alpha}$ вивільнення у фрагментах мозку щурів декскетопрофеном. TRIS

Дослідження проводили на самцях щурів Sprague-Dawley. Щурів умертвили ефірним наркозом і швидко вирізали мозок без мозочка. Органи промивали охолодженим фізіологічним розчином, а потім розрізали на невеликі фрагменти тканини. Фрагменти однієї половини мозку інкубували в 3,0 мл розчину Tyrode протягом 10 хв, що містить інгібітор або носій. Інкубацію припиняли коротким центрифугуванням для видалення фрагментів тканини. Отримані супернатанти зберігали до рівня  $PGF_{2\alpha}$  визначали імуноферментним методом (ІФА). Щоб з'ясувати, чи були синтезовані простагландини після екстракції та фрагментації мозку, був проведений попередній експеримент. Рівні  $PGF_{2\alpha}$  визначали  $\alpha$ , що виділяється з фрагментів мозку щурів після різних періодів інкубації в розчині Tyrode за відсутності сполуки. Результати показали, що  $PGF_{2\alpha}$  був залежно від часу синтезований у фрагментах мозку. Таким чином, вплив декскетопрофену. TRIS та іншого кетопрофену або R(-)-кетопрофену на  $PGF_{2\alpha}$  були оцінені. Використані концентрації варіюються від  $5 \cdot 10^{-9}$  до  $10^{-6}$  М для трьох досліджуваних продуктів.

Результати: інгібування  $PGF_{2\alpha}$ -синтез у фрагментах мозку щурів троматаміновими солями енантіомерів кетопрофену стереоселективний. Отримані значення  $IC_{50}$  становили 9,3 нМ, 349 нМ і 28 нМ для S-(+)-ketoprofen. TRIS (декскетопрофен), R(-)-ketoprofen. TRIS і рацемічного кетопрофену. TRIS відповідно. Відносна ефективність сполук S-(+)-ketoprofen. TRIS, R(-)-ketoprofen. TRIS і рацемічного ketoprofen. TRIS становить 100, 2,7 і 33 відповідно.

### Вплив dexketoprofen. TRIS на циклооксигеназну активність мікросом головного мозку щурів

Дослідження проводили на самцях щурів Sprague-Dawley. Ферментативна генерація  $PGE_{2\alpha}$  в результаті каталітичної активності циклооксигенази жирних кислот було кількісно визначено в препаратах мікросом із мозку щурів. Мозок щурів Sprague Dawley розрізали та гомогенізували вручну в 4 об'ємах калій-фосфатного буфера. Гомогенати центрифугували при 8000xg протягом 15 хвилин, а отриманий супернатант центрифугували при 100000xg протягом 60 хвилин. Осад мікросом тричі промивали калій-фосфатним буфером і ресуспендували. Концентрацію білка визначали за допомогою бичачого сироваткового альбуміну як стандарту. Препарати мікросом (0,3 мг білка) попередньо інкубували з інгібіторами протягом 5 хвилин. Інгібітори інкубували з екзогенною арахідоною кислотою в присутності кофакторів. Інкубацію проводили протягом 60 хвилин. Реакцію припиняли заморожуванням.  $PGE_{2\alpha}$  виробництво  $\alpha$  визначали за допомогою специфічних імунологічних аналізів (EIA). Концентрація досліджуваних сполук коливалася від  $10^{-7}$  М до  $10^{-3}$  М для всіх досліджуваних продуктів.

Результати: у цій моделі інгібування циклооксигенази мозку щурів декскетопрофеном. TRIS виявилось стереоселективним. Таким чином, значення  $IC_{50}$ , отримані за допомогою dexketoprofen. TRIS, R(-)-ketoprofen. TRIS і рацемічного кетопрофену. TRIS, становили 2,8 мкМ, 55,1 мкМ і 2,9 мкМ відповідно. Відносна ефективність dexketoprofen. TRIS, R(-)

)-ketoprofen.TRIS і рацемічного ketoprofen.TRIS як інгібіторів циклооксигенази мозку щурів становила 100, 5 і 97 відповідно.

#### **Дослідження оральної аналгезії на мишах у тесті на абдомінальний біль, спричинений фенілбензохіноном**

Дослідження проводили на самцях мишей швейцарської породи вагою від 20 до 25 г. Приготували спиртовий розчин фенілбензохінону (20 мг/5 мл етанолу) і розбавили його дистильованою водою до 100 мл. Солі трометаміну (TRIS) LM-1158 (декскетопрофену), LM-1159 (R-(-)-кетопрофену) і кетопрофену, що підлягали тестуванню, розчиняли в об'ємі 10 мл/кг у фізіологічному розчині. Мишей рандомізували на групи від 4 до 6 і їм давали розчин тестованого продукту перорально через стравохідну трубку. Групі контрольних тварин вводили рівний об'єм носія. Через 30 хвилин внутрішньочеревно ввели фенілбензохінон. Від 5 хвилин після ін'єкції алогенного агента до 10 хвилин підраховували кількість абдомінальних скорочень, за винятком тих, які не пов'язані з розгинанням задніх лап і/або перехрещенням боків зі скручуванням. Відсоток інгібування для кожного лікування розраховували порівняно з контрольною групою, використовуючи середнє значення кількості скорочень.

Результати: середнє ( $\pm$ SE) відсотки інгібування, отримані з LM-1158.TRIS, становили:  $86,3 \pm 4,3\%$  при 1,5 мг/кг,  $76,5 \pm 4,0\%$  при 1 мг/кг і  $42,3 \pm 11,7\%$  при 0,5 мг/кг. Середні ( $\pm$ SE) відсотки інгібування, отримані з енантіомером R-(-).TRIS, становили:  $53,9 \pm 7,1\%$  при 1,5 мг/кг,  $46,9 \pm 10,2\%$  при 1 мг/кг і  $13,6 \pm 6,0\%$  при 0,5 мг/кг. Середні ( $\pm$ SE) відсотки інгібування, отримані з ketoprofen.TRIS, були:  $97,0 \pm 2,1\%$  при 3 мг/кг,  $78,4 \pm 7,3\%$  при 2 мг/кг і  $51,0 \pm 18,6\%$  при 1 мг/кг. Статистична обробка значень кількості звужень живота показала, що немає істотних відмінностей між LM-1158.TRIS і ketoprofen.TRIS, останній вводили в подвійній дозі. Однак енантіомер кетопрофену R-(-) є менш активним, незважаючи на енантіомерну інверсію, яка призводить до утворення значних кількостей енантіомеру S-(+). Підсумовуючи, LM-1158 (сіль трометаміну) є сильним оральним анальгетиком у цьому тесті з активністю, еквівалентною кетопрофену (сіль трометаміну), що вводиться в подвійній дозі. Навпаки, енантіомер кетопрофену R-(-) є менш потужним, і його анальгетичну активність частково або повністю можна віднести до утворення S-(+) шляхом біоінверсії.

#### **Порівняння тривалості знеболюючого ефекту після перорального введення LM-1158 та його солі LM-1158.TRIS у тесті на біль, індукований фенілбензохіноном, у мишей**

Дослідження проводили на мишах-самцях породи Swiss вагою від 20 до 25 г. Готували спиртовий розчин фенілбензохінону (20 мг/5 мл в етанолі) і розводили його до 100 мл дистильованою водою. Декскетопрофену кислоту (LM-1158) суспендували у фізіологічному розчині, що містить 0,5% карбоксиметилцелюлози та 0,4% Твіну 80, трометамінову сіль декскетопрофену (LM-1158.TRIS) розчиняли у фізіологічному розчині. Мишей рандомізували на групи по 4 і 6 мишей, і вони отримували досліджувані продукти в дозі 0,5 мг/кг/10 мл перорально, використовуючи стравохідну трубку. Дослідження було розділене на кілька серій, і кожна з них проводилася з паралельною контрольною групою. Після інтервалів

часу, обраних для кожної групи (0, 10, 20, 30, 40, 60, 150 і 180 хвилин), розчин фенілбензохінону вводили внутрішньочеревно. Від 5 до 10 хвилини після ін'єкції алогенного агента підраховували кількість звужень живота, за винятком тих, які не були пов'язані з розтягуванням задніх кінцівок та/або перетином хребтів зі скручуванням. Індивідуальний відсоток інгібування розраховували за кількістю скорочень у кожній тварини порівняно з контрольною групою, використовуючи середнє значення для кількості контрольних скорочень.

Результати: статистичне порівняння результатів, виконане за допомогою t-критерію Стюдента, дозволяє припустити, що існують значні відмінності між кількістю звужень, виміряною після обробки суспензією LM-1158, і кількістю звужень, виміряною після введення водного розчину LM-1158.TRIS. через 40, 90 і 120 хвилин, з більшим числом для першої обробки. Відсотки інгібування значно вищі через 40, 90 і 120 хвилин після введення LM-1158.TRIS у водному розчині порівняно з LM-1158, що вводиться у вигляді суспензії в тій же дозі (0,5 мг/кг).

**Дослідження аналгезії в тесті на абдомінальний біль, спричинений фенілбензохіноном, у мишей, які вводили LM-1158 у вигляді натрієвої солі перорально та внутрішньовенно**

Дослідження проводилося на швейцарських мишах-самцях вагою від 20 до 25 грамів. Приготували спиртовий розчин фенілбензохінону (20 мг/5 мл в етанолі), який розбавили до 100 мл дистильованою водою. Досліджувані продукти розчиняли у водному середовищі з утворенням натрієвої солі при додаванні необхідної кількості NaOH. Для перорального дослідження мишей рандомізували на групи по 4 і 6 мишей і отримували розчин досліджуваного продукту (10 мл/кг) за допомогою стравохідної трубки. Групу контрольних тварин обробляли таким же об'ємом носія. Через 30 хвилин внутрішньочеревно ввели фенілбензохінон. Для внутрішньовенного дослідження розчини продуктів вводили шляхом ін'єкції в каудальну вену хвоста (10 мл/кг), а алогенний агент вводили внутрішньочеревинно відразу після обробки, кількість звужень живота підраховували, починаючи з 5 хвилин після ін'єкції алогенного агента до 10 хвилин, за винятком тих, які не пов'язані з розтягуванням задніх лап і/або перетином боків зі скручуванням. Відсоток інгібування для кожного лікування розраховували порівняно з контрольною групою, використовуючи середнє значення кількості скорочень. Дози рацемічного кетопрофену вдвічі перевищували дози LM-1158 (декскетопрофену) та енантіомеру R-(-)-кетопрофену, оскільки кетопрофен є рацемічною сумішшю 50% активного інгредієнта LM-1158 та 50% енантіомеру R- (-), з меншою активністю або без неї.

Результати: Середнє (±SE) відсоток інгібування, отриманий пероральним шляхом, був таким (усі дози виражені як вільна кислота): Для LM-1158: 93,3±2,3% при 1,5 мг/кг; 68,6±7,1% при 0,5 мг/кг; 54,9±8,8% при 0,15 мг/кг і 20,6±10,1 при 0,05 мг/кг. Для енантіомеру R-(-): 67,9±6,0% при 1,5 мг/кг; 52,9±7,2% при 0,5 мг/кг, 24,9±8,6% при 0,15 мг/кг і 16,6±5,0% при 0,05 мг/кг. Для кетопрофену: 96,3±2,4% при 3 мг/кг, 70,8±7,2% при 1 мг/кг; 70,4±8,3% при 0,3 мг/кг і 50,7±10,6 при 0,1 мг/кг. Середні (±SE) відсотки інгібування, отримані для внутрішньовенного шляху, були такими: Для LM-1158: 81,1±12,1% при 1 мг/кг; 57,7±9,8% при 0,5 мг/кг; 59,1±11,2% при 0,15 мг/кг і 36,4±6,2% при 0,05 мг/кг. Для енантіомеру R-

(-):  $20,5 \pm 9,7$  при 1 мг/кг,  $14,0 \pm 4,4\%$  при 0,5 мг/кг;  $27,8 \pm 10,6\%$  при 0,15 мг/кг і  $31,3 \pm 7,5\%$  при 0,05 мг/кг. Для кетопрофену:  $81,1 \pm 6,5\%$  при 2 мг/кг;  $71,6 \pm 6,0\%$  при 1 мг/кг;  $46,4 \pm 7,9\%$  при 0,3 мг/кг і  $35,0 \pm 9,0\%$  при 0,1 мг/кг.

Статистичний аналіз (t Стьюдента) значень кількості звужень живота, отриманих при пероральному застосуванні, показав, що немає суттєвих відмінностей між LM-1158 і рацемічним кетопрофеном, причому останній вводили в подвоєній дозі. Однак енантіомер кетопрофену R(-) менш активний порівняно з LM-1158 і рацемічним кетопрофеном. Статистичний аналіз (t Стьюдента) значень кількості звужень живота, отриманих при внутрішньовенному введенні, показав, що немає істотних відмінностей між LM-1158 і рацемічним кетопрофеном, останній вводили в подвоєній дозі. Кетопрофеновий енантіомер R(-) значно менш потужний, ніж LM-1158 і рацемічний кетопрофен.

#### **Дослідження внутрішньовенної аналгезії у мишей у тесті на біль у животі, спричинений фенілбензохіноном.**

Дослідження проводили на самцях мишей швейцарської породи вагою від 20 до 25 г. Приготували спиртовий розчин фенілбензохінону (20 мг/5 мл етанолу) і розбавили його дистильованою водою до 100 мл. Солі трометаміну, що підлягали тестуванню, розчиняли в об'ємі фізіологічного розчину, еквівалентному 10 мл/кг маси тіла. Мишей рандомізували на групи по 4 і 6 мишей і їм внутрішньовенно вводили досліджуваний продукт у бічну вену хвоста. Групі контрольних тварин вводили рівний об'єм носія. Одразу після введення внутрішньоочередовно вводили розчин фенілбензохінону. З 5 хвилини після ін'єкції альгогенного агента до 10 хвилини підраховували кількість абдомінальних скорочень, за винятком тих, які не пов'язані з розгинанням задніх лап і/або перетином боків із скручуванням. Відсоток інгібування кожного лікування розраховували з контрольної групи, використовуючи середнє значення кількості скорочень.

Результати: середні ( $\pm$ SE) відсотки інгібування (доза, виражені як вільна кислота), спричинені LM-1158.TRIS (декскетопрофен трометамол), становили:  $92,1 \pm 2,2\%$  при 0,5 мг/кг;  $53,7 \pm 6,7\%$  при 0,15 мг/кг і  $34,5 \pm 7,0\%$  при 0,05 мг/кг. Середній відсоток інгібування, спричинений енантіомером R(-)-кетопрофеном.TRIS, становив:  $23,8 \pm 7,3\%$  при 1 мг/кг;  $29,2 \pm 7,3\%$  при 0,5 мг/кг і  $25,3 \pm 6,2\%$  при 0,15 мг/кг. Середній ( $\pm$ SE) відсоток інгібування, викликаний ketoprofen.TRIS, становив:  $93,7 \pm 3,4\%$  при 1 мг/кг;  $50,2 \pm 9,1\%$  при 0,3 мг/кг і  $38,6 \pm 6,9\%$  при 0,1 мг/кг.

Статистичний аналіз показує, що немає істотної різниці між LM-1158.TRIS і ketoprofen.TRIS, останній вводили у двократній дозі. Однак кетопрофеновий енантіомер R(-) є набагато менш активним, зі значеннями звивань (скорочень живота), еквівалентними показникам контрольної групи мишей.

#### **Дослідження пероральної аналгезії в тесті на абдомінальний біль, індукований етакриновою кислотою у щурів.**

Дослідження проводили на самцях щурів лінії Вістар масою від 130 до 150 г. Індуктор абдомінального болю отримували у водному розчині 75 мг етакринової кислоти, яку розчиняли в 2,7 мл 1 н. NaOH з утворенням

натрієвої солі, а також додавали 1 мл 1% розчину синього Еванса для перевірки внутрішньоочеревинного введення. . Солі трометаміну досліджуваних продуктів розчиняли у фосфатно-сольовому буфері об'ємом, еквівалентним 10 мл/кг маси тварини. Контрольну групу обробляли таким же об'ємом носія. Щури були рандомізовані на групи від 4 до 6 і отримували розчинені досліджувані продукти перорально через стравохідну трубку. Через 30 хвилин внутрішньоочеревинно вводили розчин етакринової кислоти (15 мг/кг). Від ін'єкції альгогенетичного агента до 30-ї хвилини підраховували звуження живота, за винятком тих, які не пов'язані з розтягуванням задніх лап і/або перетином боків зі скручуванням. Відсоток інгібування для кожного лікування розраховували з контрольної групи за допомогою середнього числа скорочень.

Результати: Середне ( $\pm$ SE) відсотки інгібування, спричинені LM-1158.TRIS (دوزи, виражені як вільна кислота), становили: 79,3 $\pm$ 4,9% при 4 мг/кг; 82,6% $\pm$ 3,8% при 2 мг/кг; 60,5 $\pm$ 7,4% при 1 мг/кг; 67,9 $\pm$ 5,3% при 0,5 мг/кг; 35,3 $\pm$ 7,5% при 0,25 мг/кг і 35,0 $\pm$ 8,5% при 0,125 мг/кг. Середні ( $\pm$ SE) відсотки інгібування, спричинені енантіомером кетопрофену R-(-).TRIS, становили: 55,2 $\pm$ 16,7% при 2 мг/кг; 34,9 $\pm$ 9,6% при 1 мг/кг; 28,0 $\pm$ 12,1% при 0,5 мг/кг і 28,0 $\pm$ 6,8% при 0,25 мг/кг. Середні ( $\pm$ SE) відсотки інгібування, спричинені рацемічної сіллю TRIS кетопрофену, становили: 79,8 $\pm$ 3,6% при 8 мг/кг; 69,6 $\pm$ 4,2% при 4 мг/кг; 56,0 $\pm$ 10,9% при 2 мг/кг; 50,2 $\pm$ 9,2% при 1 мг/кг, 55,6 $\pm$ 6,4% при 0,5 мг/кг і 21,6 $\pm$ 7,1 при 0,25 мг/кг. Статистичний аналіз показав, що немає суттєвих відмінностей між LM-1158.TRIS і ketoprofen.TRIS, останній вводили у двократній дозі. Проте енантіомер кетопрофену R-(-) менш активний, оскільки лише при найвищій дозі він спричиняв кількість звужень, значно меншу, ніж у контрольній групі.

**Дослідження внутрішньовенної аналгезії в тесті на абдомінальний біль, індукований етакриновою кислотою у щурів**

Дослідження проводили на самцях щурів Вістар вагою від 130 до 150 грам. Готували водний розчин 75 мг етакринової кислоти, розчиняючи шляхом утворення натрієвої солі з 2,7 мл 0,1 н. гідроксиду натрію та також додавали один мл 1% розчину синього Еванса для перевірки внутрішньоочеревинного введення. Солі трометаміну, що підлягали тестуванню, розчиняли в об'ємі забуференого фосфатом фізіологічного розчину до 2,5 мл/кг ваги тварини. Щурів рандомізували на групи від 4 до 6 і отримували розчин досліджуваного продукту внутрішньовенно в бічну вену хвоста. Групу контрольних тварин обробляли таким же об'ємом носія. Одразу після цього внутрішньоочеревинно вводили розчин етакринової кислоти (15 мг/кг). Від ін'єкції альгогенного агента до 30 хвилин підраховували кількість звужень живота, за винятком тих, які не пов'язані з розтягуванням задніх лап і/або перетином боків зі скручуванням. Відсоток інгібування для кожного лікування розраховували порівняно з контрольною групою, використовуючи середнє значення кількості скорочень. Дози рацемічного кетопрофену.TRIS були вдвічі вищими за LM-1158.TRIS (декскетопрофен трометамол) або його енантіомеру R-(-)-ketoprofen.TRIS. Дози виражені як вільна кислота.

Результати: відсотки середнього інгібування ( $\pm$ SE), викликані LM-1158.TRIS, були: 75,4 $\pm$ 6,5% при 0,5 мг/кг; 81,7 $\pm$ 5,8% при 0,15 мг/кг,

45,7±13,1% при 0,10 мг/кг і 17,6±9,7% при 0,05 мг/кг. Відсоток середнього інгібування ( $\pm$ SE), спричиненого TRIS-соллю енантіомеру R-(-) кетопрофену, становив: 57,0±7,9 % при 0,5 мг/кг; 27,2±14,4% при 0,15 мг/кг і 30,7±13,4% при 0,10 мг/кг. Відсоток середнього всмоктування ( $\pm$ SE), викликаного TRIS-соллю рацемічного кетопрофену, становив 82,2±4,2% при 1 мг/кг; 78,6±4,9% при 0,3 мг/кг; 46,4±11,8% при 0,2 мг/кг і 19,5±10,4% при 0,10 мг/кг. Статистичний аналіз показує, що немає суттєвих відмінностей між LM-1158.TRIS і ketorprofen.TRIS, пізнішим введеним у подвійній дозі. Навпаки, енантіомер кетопрофену R-(-) менш активний, оскільки лише при найвищій дозі кількість звужень була значно меншою, ніж у контрольній групі.

#### **Інгібування активності ЦОГ-1 і ЦОГ-2 в інтактних клітинних системах людини в цільній крові людини декскетопрофеном**

Індукція, а також інгібування активності ЦОГ-2 у моноцитах людини проводилися згідно з раніше повідомленими процедурами. Мононуклеарні клітини людини були відокремлені від лейкоцитів за допомогою Фіколла-Паке. Після центрифугування лімфоцити шарувалися на градієнтній межі розділу, тоді як поліморфноядерні (PMN) клітини були в нижній фракції. Мононуклеарні клітини обережно видаляли, промивали і ресуспендували. Аликвоти по 10 мл висівали в пластикові чашки Петрі та інкубували. Ізольовані моноцити інкубували в повному середовищі (CDMEM) протягом 24 годин у присутності ліпополісахариду (LPS) 10µг/мл. Вплив інгібіторів вивчали шляхом інкубації суспензії моноцитів з кожним препаратом у різних концентраціях. Супернатант відокремлювали центрифугуванням і зберігали до аналізу на простагландин E2 (PGE2) за допомогою специфічного імуоферментного аналізу (EIA). До кожного експерименту були включені бланки та контролю транспортно засобу. Усі тести та контролю проводили в трьох повторях. Вплив на конститутивну циклооксигеназу (ЦОГ-1) визначали в тромбоцитах людини, вимірюючи продукцію тромбоксану B2 (TXB2), індуковану екзогенною арахідоновою кислотою. Цільну кров людини також використовували для оцінки впливу на активності ЦОГ-1 і ЦОГ-2. Активність ЦОГ-1 вимірювали за утворенням TXB2, індукованим іонофором кальцію A23187. Активність COX-2 оцінювали шляхом вимірювання LPS-індукованого утворення PGE2.

Результати: в інтактних моноцитах декскетопрофен інгібував синтез PGE2 залежно від концентрації (IC50=27 нМ). У тромбоцитах людини декскетопрофен інгібував активність ЦОГ-1 з IC50=2,05 нМ. Нарешті, декскетопрофен пригнічував утворення PGE2 у цільній крові, інфікованій ЛПС (IC50=0,29µM) і рівні TXB2 після згортання крові (IC50=0,024µM) як біохімічний індекс активності ЦОГ-2 і ЦОГ-1 відповідно. S-(+)флурбiproфен пригнічує ЦОГ-2 і ЦОГ-1 з IC50 4,3µM і 0,09µM для, відповідно, тоді як відповідні значення IC50 для індометацину становили 0,63µM і 0,23µM.

#### **Дослідження центральної анальгетичної дії НПЗП декскетопрофену на здорових тваринах і тваринах із запальним болем (моноартрит)**

Мета цього дослідження полягала в тому, щоб оцінити, чи НПЗП декскетопрофен трометамол викликає антиноцицепцію у одномоторних

	<p>одиниць щурів Вістар (SMU), чи є ці ефекти центральними та наскільки він потужний у порівнянні з опіоїд фентаніл при депресії явища вітру. Крім того, антиноцицептивну дію декскетопрофену вивчали на здорових тваринах і на тваринах, які перенесли запальний процес, спричинений введенням карагенану в один із колінних суглобів.</p> <p>Експерименти проводили на самцях щурів Вістар під наркозом альфа-хлоралозою. Ноцицептивні рефлекси реєструвалися як окремі рухові одиниці периферичних м'язів, активовані механічною та електричною стимуляцією. Артеріальний тиск вимірювали на сонній артерії. Моноартрит був викликаний ін'єкцією 50мкл розчину 10 мг/мл карагенану в порожнину колінного суглоба, що викликало достовірне збільшення периметра колінного суглоба з <math>64,0 \pm 0,6</math> мм до <math>73,9 \pm 1,0</math> мм.</p> <p>У нормальних тварин як декскетопрофен, так і фентаніл пригнічували відповіді, викликані механічною та електричною стимуляцією внутрішньовенними дозами в однаковому наномольному діапазоні (значення ID50: декскетопрофен 100 і 762 нмоль/кг і фентаніл: 40 і 51 нмоль/кг відповідно). Декскетопрофен і фентаніл також істотно пригнічували закручування, мінімальні ефективні дози становили 50 і 30 нмоль/кг відповідно. Зроблено висновок, що декскетопрофен має центральну анагетичну дію у нормальних тварин і пригнічує ноцицептивні реакції з потенцією, подібною до опіоїдний агоніст.</p> <p>У тварин із моноартритом ефект декскетопрофену трометамолу був децю менш сильним. Дозозалежне пригнічення відповідей спостерігалось завжди, але ефект був значущим лише при механічній стимуляції (ID50 <math>1,8</math> нмоль/кг). Однак фентаніл був еквіпотенційним відносно контрольної групи тварин (ID50 62 і 89 нмоль/кг при механічній і електричній стимуляції відповідно). Тим не менш, декскетопрофен викликав значне пригнічення згортання при дозах 100 нмоль/кг.</p> <p>У нормальних тварин декскетопрофен не мав істотного впливу на артеріальний кров'яний тиск, зниження <math>15 \pm 5</math> мм рт. ст. було зареєстровано при найвищій випробуваній дозі (800 нмоль/кг), тоді як дозозалежний гіпотензивний ефект був зареєстрований для фентанілу, зі значними ефектами, починаючи з 8 нмоль/кг і максимальним зниженням <math>58 \pm 12</math> мм рт.ст. при 64 нмоль/кг.</p>
2) вторинна фармакодинаміка	
3) фармакологія безпеки	
4) фармакодинамічн і взаємодії	
3. Фармакокінетика:	

1) аналітичні методики та звіти щодо їх валідації	
2) всмоктування	<p><b>Фармакокінетика в плазмі перорального 14C-LM-1158.TRIS у щурів. Вплив присутності R(-)-кетопрофену.ТРИС-енантіомеру</b></p> <p>Це дослідження встановило фармакокінетику перорального LM-1158 у щурів у присутності енантіомеру R(-)-кетопрофену.</p> <p>Пероральні дози 7,4 мг.кг-1 14C-LM-1158.TRIS і 7,4 мг.кг-1 LM-1159.TRIS (R(-)-ketoprofen.TRIS) вводили одночасно самцям щурів лінії Sprague-Dawley. і зразки крові отримували в різний час після введення. Зразки плазми аналізували за допомогою двох різних аналітичних методів: радіоактивного підрахунку та ВЕРХ. Рівні LM-1158 у плазмі, отримані за допомогою ВЕРХ, статистично перевищують рівні, виміряні рідинною сцинтиляцією. Це збільшення пов'язане з нерадіоактивним LM-1158, що є результатом інверсії енантіомеру кетопрофену R(-). Навпаки, не спостерігалось суттєвих відмінностей між рівнями LM-1158 у плазмі, отриманими в цьому дослідженні, та рівнями в попередньому дослідженні, у якому вводився лише 14C-LM-1158.TRIS (дослідження РК002), де кількісне визначення проводилося за допомогою рідинної сцинтиляції. Максимальна експериментальна концентрація 14C-LM-1158 (17706 dpm.ml-1) була отримана через 10 хвилин після перорального введення. 14C-LM-1158. ТРИС повільно виводився з центрального відділу з періодом напіввиведення 12,36 години та плазмовим кліренсом 0,057 л.кг-1.год-1. Як і у випадку з рівнями в плазмі, фармакокінетичні параметри, виміряні в цьому дослідженні, були дуже подібними до параметрів попереднього дослідження РК002, де 14C-LM-1158. Було введено тільки ТРИС.</p> <p>Через 72 години після введення ~ 100% введеної радіоактивності виявлялося в сечі та калі; з них 29,95% було знайдено в сечі, а решта 70-0,03% виявлено в калі. Ці дані узгоджуються з даними попереднього дослідження РК002 і підтверджують існування кишково-печінкового циклу у цього виду.</p> <p>Загалом, ці результати показують, що на процеси поглинання, розподілу та виведення LM-1158 не впливає присутність кетопрофенового енантіомеру R(-).</p> <p><b>Фармакокінетика LM-1158.TRIS після одноразового перорального введення шурам.</b></p> <p>У цьому дослідженні досліджували фармакокінетику кетопрофену енантіомеру S-(+) (LM-1158) у щурів після одноразового перорального введення міченої радіоактивним ізотопом солі трометаміну сполуки (14C-LM-1158.TRIS) у дозі 7,4 мг.кг-1. Рівень радіоактивності вимірювали в плазмі, сечі та калі. Концентрації LM-1158 у плазмі та сечі також кількісно визначали за допомогою ахіральної ВЕРХ. Максимальні експериментальні концентрації 14C-LM-1158 (10,47µг.мл-1) отримували приблизно через 15 хвилин після введення. Препарат продемонстрував бікомpartmentну поведінку з періодом напіврозподілу 5,7 хвилини. LM-1158 повільно виводився з центрального компартменту із середнім</p>

періодом напіввиведення 9,5 години та плазмовим кліренсом 0,069 л.кг<sup>-1</sup>.год<sup>-1</sup>. Порівнюючи значення AUC, отримані після перорального та внутрішньовенного введення (дослідження РК003), біодоступність сполуки для цього виду та шляху введення становила 41%.

Через 72 години після введення 35,49% загальної кількості введеного препарату було виявлено в сечі, тоді як решта радіоактивності (74,35%) виявлена в калі. Ці дані разом із тривалим періодом напіввиведення підтверджують існування жовчної екскреції сполуки, пов'язаної з кишково-печінковим циклом. Із загальної радіоактивності, виявленої в сечі через 48 годин після введення, 61,49 % відповідало метаболітам, а 38,51 % — незміненому LM-1158 (вільному та глюкоронокон'югованому).

#### **Фармакокінетика в плазмі LM-1158 після одноразового введення внутрішньовенної дози 5 мг.кг<sup>-1</sup> щурам.**

Фармакокінетика LM-1158 була вивчена на самцях щурів Sprague-Dawley у дозі 5 мг.кг<sup>-1</sup>. Рівні в плазмі оцінювали в різний час за допомогою ахіральної ВЕРХ. Через п'ять хвилин після введення (точка часу першого взяття проби) спостерігалися середні рівні 24,79 мкг.мл<sup>-1</sup>, які знизилися до 6,62 мкг.мл<sup>-1</sup> через 1,5 години. Пізніше зниження рівнів з часом показало менший нахил, з рівнями 0,33мкг.мл<sup>-1</sup> через 62 години після введення. Площа під кривою експериментальних значень між 0 і 62 годинами становила 169,42 мкг. мл<sup>-1</sup>.h . Рівні в плазмі в різний час були скориговані відповідно до двокомпонентної внутрішньовенної моделі. Початкова концентрація була оцінена як 28,9 мкг/мл<sup>-1</sup>. Фаза розподілу показала період напіввиведення 12,6 хвилини. У фазі виведення період напіввиведення становив 14,9 години. Препарат показав низький об'єм розподілу 0,17 л.кг<sup>-1</sup>.

#### **Фармакокінетика LM-1158 після одноразового внутрішньовенного введення в дозі 5 мг.кг<sup>-1</sup> морським свинкам**

Фармакокінетику LM-1158 вивчали на морських свинках після внутрішньовенного введення одноразової дози 5 мг/кг міченої радіоактивним ізотопом сполуки <sup>14</sup>C у вигляді вільної кислоти (14C-LM-1158.TRIS). Загальну радіоактивність і фракцію, що відповідає незміненому препарату, вимірювали в плазмі. Рівні <sup>14</sup>C-LM-1158 у плазмі крові були скориговані відповідно до двокомпаратментної моделі внутрішньовенного введення. Початкова концентрація була оцінена як 21,85 мкг/мл. Період напіввиведення препарату становив 4,15 години. Об'єм розподілу становить 5,24 л/кг, а кліренс — 0,87 л/год. Радіоактивність в основному виводиться з сечею, так що 99,74% загальної введеної радіоактивності виявляється в сечі через 48 годин після введення. Після аналізу за допомогою стереоселективного аналізу ВЕРХ деяких зразків сечі було виявлено відсутність енантімерної інверсії LM-1158 до енантімеру R-(-).

#### **Фармакокінетичне дослідження декскетопрофену після перорального введення сумішей з різним складом декскетопрофену. TRIS і R-(-) кетопрофену. TRIS собакам породи Бігль.**

Мета цього дослідження полягала у встановленні фармакокінетики декскетопрофену після перорального введення сумішей з різними

композиціями декскетопрофену.ТРИС та R-(-)-кетопрофену.ТРИС собакам породи Бігль та оцінка впливу R-(-)-кетопрофену в декскетопрофені. біодоступність.

Лише декскетопрофен був радіоактивно мічений  $^{14}\text{C}$  з питомою активністю  $8,07\mu\text{Ci}/\text{mg}$ . Кожну суміш енантіомерів вводили в дозі  $1\text{ mg}/\text{kg}$ . Крім того, вимірювали виділення препарату з сечею протягом 24 годин після введення. Композиції введених сумішей були такими: 1) 99%  $^{14}\text{C}$ -декскетопрофену.ТРИС: 1% R-(-)-кетопрофену.ТРИС, 2) 95%  $^{14}\text{C}$ -декскетопрофену.ТРИС: 5% R-(-)-кетопрофену.ТРИС; 3) 90%  $^{14}\text{C}$ -декскетопрофену.ТРИС: 10% R-(-)-кетопрофену.ТРИС; 4) 70%  $^{14}\text{C}$ -декскетопрофену.ТРИС: 30% R-(-)-кетопрофену.ТРИС і 5) 50%  $^{14}\text{C}$ -декскетопрофену.ТРИС: 50% R-(-)-кетопрофену.ТРИС. План введення був перехресним і рандомізованим, і кожна тварина отримала 5 процедур. Використовували вісім собак породи Бігль, і між введеннями залишали період відмивання щонайменше один тиждень. Введення проводили перорально через стравохідний зонд. Зразки плазми аналізували за допомогою хіральної стаціонарної фази ВЕРХ після екстракції в кислому середовищі етилацетатом. Після збору хроматографічних елюентів, що відповідають R-(-)-кетопрофену та декскетопрофену, рівні радіоактивності визначали кількісно ( $\text{dpm}/\text{ml}$ ) за допомогою рідкого сцинтиляторного лічильника. Рівні декскетопрофену ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) також вимірювали за допомогою ультрафіолетового поглинання. Зразки сечі аналізували за допомогою ВЕРХ зі стаціонарною фазою після основного гідролізу та екстракції. Загальну радіоактивність та рівні  $^{14}\text{C}$ -декскетопрофену ( $\text{dpm}/\text{ml}$ ) кількісно визначали методом рідинної сцинтиляції, рівні суміші енантіомерів кетопрофену ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) за допомогою ультрафіолетового поглинання та відносні процентні вмісти R-(-)-кетопрофену та декскетопрофену за допомогою хіральної стаціонарної фази ВЕРХ після аналізу оберненої стаціонарно-фазової ВЕРХ.

Результати. З отриманих рівнів  $^{14}\text{C}$ -декскетопрофену в плазмі та AUC видно лінійне збільшення абсорбції декскетопрофену, коли частка декскетопрофену у введений суміші енантіомерів збільшується, за винятком найвищої дози декскетопрофену (лікування 1), яка демонструє нижчі значення, ніж лікування 2 і 3. Цей результат свідчить про те, що абсорбція декскетопрофену не є більшою, якщо продукт енантіомерно чистіший, і що присутність R-(-)-кетопрофену не впливає на біодоступність декскетопрофену. Хоча спостерігається тенденція до того, що найбільш енантіомерно чисте лікування (лікування 1) має найменшу біодоступність, немає статистично значущих відмінностей між значеннями біодоступності п'яти видів лікування. Для досліджуваних параметрів (рівні в плазмі від 20 хвилин до кінця, AUC, скориговані AUC і  $\text{Stax}$ ) тести на лінійність є статистично значущими, тобто спостерігається лінійне їх збільшення при підвищенні декскетопрофену.

Середні відсоткипоперекрізна обробка загальної радіоактивності,  $^{14}\text{C}$ -декскетопрофен і як декскетопрофен, так і R-(-) кетопрофен (суміш енантіомерів), виділені в сечі через 0-24 год із загальної введеної дози, становлять  $48,08\pm 5,95\%$ ,  $7,48\pm 1,11\%$ ,  $7,53\pm 1,32\%$  відповідно. Немає статистично значущих відмінностей між п'ятьма методами лікування в жодному з протестованих параметрів відновлення. Хоча немає статистично значущих відмінностей у відсотках виділення  $^{14}\text{C}$ -декскетопрофену та сумішей енантіомерів кетопрофену в сечі,

	<p>спостерігається тенденція до меншого виділення суміші енантіомерів кетопрофену для лікування 5 (50% R-(-)- кетопрофен). Усе це разом із відсутністю R-(-)-кетопрофену в усіх методах лікування призводить до припущення, що R-(-)-кетопрофен легше метаболізується у собак породи Бігль, ніж декскетопрофен.</p>
3) розподіл	<p><b>Кількісний розподіл <math>^{14}\text{C}</math>-LM-1158 у тканинах щурів Long-Evans після одноразового перорального введення (5 мг/кг)</b></p> <p>Дослідження було проведено для оцінки розподілу радіоактивності в тканинах за допомогою кількісної авторадіографії всього тіла та аналізу зображень. Дев'яти самцям щурів Long-Evans (пігментованих) перорально вводили 5 мг/кг міченого радіоактивним ізотопом вільного декскетопрофену (<math>^{14}\text{C}</math>-LM-1158). Під час експерименту також досліджували сечовиділення. В органах і тканинах рівні радіоактивності в залежності від часу визначали кількісно шляхом аналізу зображень на авторадіограмах з використанням двох стандартних кривих. Ця методика була перевірена шляхом встановлення двох кореляцій між результатами, отриманими в тканинах за допомогою рідинного сцинтиляційного підрахунку, та результатами, отриманими за допомогою аналізу зображень.</p> <p>Результати: у цільній крові та плазмі найвищі концентрації радіоактивності спостерігалися через 0,33 години після введення дози (середні значення: 3,99 та 7,18) <math>\mu\text{г екв/г}</math> відповідно). Потім радіоактивність знизилася до 0,65 і 1,09 <math>\mu\text{г екв/г}</math>, через 24 години після лікування, у цільній крові та плазмі відповідно. Широкий розподіл радіоактивності спостерігався через 0,33 години після дози. Найвищі рівні радіоактивності були виявлені у вмісті шлунка, печінки, нирок, бурого жиру, надниркових залоз і щитовидної залози з концентраціями в тканинах від 1,0 до 5,0 <math>\mu\text{г/г}</math> тканини. Низький рівень радіоактивності (&lt;0,5 <math>\mu\text{г/г}</math>) були виявлені в м'язах, спинному мозку, статевих залозах, хрящах і центральній нервовій системі. Через 6 годин після введення дози високий рівень радіоактивності все ще виявлявся в органах виділення, таких як кортикальна частина нирок і печінка, однак в інших органах зниження радіоактивності мало подібну кінетику, як у плазмі.</p> <p><b>Енантіоселективне накопичення енантіомерів кетопрофену в жировій тканині</b></p> <p>Метою цього дослідження було вимірювання здатності вбудовування обох енантіомерів кетопрофену, LM-1158 і R-(-)-кетопрофену, в жирову тканину щурів. Обидва енантіомери вводили окремо у вигляді водного розчину за допомогою шлунково-стравохідної трубки, радіоактивно міченого <math>^{14}\text{C}</math> і у вигляді солі треметаміну (<math>^{14}\text{C}</math>-LM-1158.TRIS і <math>^{14}\text{C}</math>-LM-1159.TRIS). Для кожної обробки тестували 4 тварин у дозі 10 мг.кг<sup>-1</sup> (<math>9\mu\text{Ci}</math>), вводять щодня протягом 5 днів. Рівень радіоактивності вимірювали в плазмі, жировій тканині та тканині печінки. Рівні вільної сполуки та сполуки, зв'язаної з фракціями жирних кислот, також вимірювали в зразках жирової тканини та печінки. Вимірювання проводили через 4 години після останнього введення.</p> <p>Результати: Рівні радіоактивності в плазмі та печінковій тканині були подібними між лікуваннями. Загальні рівні радіоактивності (як вільної сполуки, так і зв'язаної з фракцією жирних кислот) у жировій тканині</p>

	<p>істотно відрізнялися (<math>p &lt; 0,001</math>) залежно від лікування, причому концентрація в тканині після введення 14С-LM-1159.TRIS була в 6,5 разів вищою, ніж що отримано після введення 14С-LM-1158.TRIS. Розподіл рівнів радіоактивності серед різних фракцій відрізнявся залежно від лікування. Співвідношення рівнів радіоактивності у фракції, що відповідає жирним кислотам, після обробки 14С-LM-1159.TRIS до обробки 14С-LM-1158 становило 16,7 до 1. У тварин, які отримували 14С-LM-1159.TRIS, понад 70 % радіоактивності в жировій тканині було виявлено як зв'язане з тригліцеридами, і лише 26 % у вигляді вільної сполуки. Після введення 14С-LM-1158.TRIS лише 19% загальної радіоактивності було зв'язано з тригліцеридами, а більше 77% виявлено у вигляді вільної сполуки. Не спостерігалось жодних статистичних відмінностей між загальною радіоактивністю, накопиченою в печінці після введення 14С-LM-1159.TRIS і 14С-LM-1158.TRIS. Коли було виміряно розподіл радіоактивності в різних фазах екстракції, було видно, що при обох обробках більше 80% радіоактивності в печінці було знайдено у вигляді вільної сполуки, а решта – у вигляді глюкуронокоюгатів або кетопрофеніл-КоА.</p>
4) метаболізм	<p><b>Стереоселективні метаболічні шляхи кетопрофену у щурів: включення в триацилгліцероли та енантіомерна інверсія</b></p> <p>Енантіомерну біоінверсію енантіомерів кетопрофену (КП) та їх включення в триацилгліцероли досліджували на щурах (1) <i>in vitro</i> з використанням гомогенатів печінки, субклітинних фракцій і гепатоцитів, і (2) <i>in vivo</i> в різних зразках тканини після перорального введення радіоактивно міченого сполуки. У гомогенатах або субклітинних фракціях печінки енантіомер (S)-кетопрофен (S-КР) був відновлений без змін, тоді як R-кетопрофен (R-КР) був частково перетворений у його тіоефір коферменту А (CoA) та інвертований у S-КР. Обидва процеси відбувалися переважно у мітохондріальній фракції. Це підтримує механізм інверсії через стереоселективне утворення тіоефірів КоА R-КР, уже описаний для інших НПЗЗ. Включення в триацилгліцерини було виявлено після інкубації з інтактними гепатоцитами в присутності доданого гліцерину. Процес був стереоселективним для R-КР проти S-КР (ковалентно зв'язана радіоактивність <math>26742 \pm 4665</math> dpm/106 комірок проти <math>6644 \pm 3179</math> dpm/<math>10^6</math> клітини відповідно). Однак у зразках печінки після перорального введення ні R-КР, ні S-КР включення не було виявлено. Навпаки, у зразках жирової тканини спостерігалось значне стереоселективне утворення гібридних триацилгліцеринів: <math>11076 \pm 2790</math> dpm.g-1 для R-КР проти <math>660 \pm 268</math> dpm.g-1 для S-КР. Інтегроване співвідношення R/S, вище в жировій тканині (R/S=17), ніж у гепатоцитах (R/S=4), вказує на те, що жир може бути основним тканинним запасом для ксенобіотика R-КР у щурів.</p> <p><b>Фармакокінетика енантіомерів R(-)-кетопрофену та LM-1158 після одноразового перорального введення рацемічного 14С-кетопрофену (солі трометаміну) мишам</b></p> <p>У цьому дослідженні вимірювали фармакокінетику обох енантіомерів кетопрофену в плазмі після одноразової пероральної дози трометамінової солі рацемічного кетопрофену у вигляді солі трометаміну (14С-ketoprofen.TRIS) у швейцарських мишей. Було введено разову дозу 5 мг/кг 14С-кетопрофену.ТРИС, і в різний час після введення були взяті зразки крові та сечі. Рівні енантіомерів R(-)-кетопрофену та LM-1158 розділяли високоефективною рідинною хроматографією (ВЕРХ) з використанням</p>

хіральної стаціонарної фази, а потім кількісно визначали рідинною сцинтиляцією.

Результати: Подібні рівні обох енантіомерів були отримані в зразках плазми з максимальною концентрацією через 10 хвилин після перорального прийому. З цього часу рівні LM-1158 завжди були вищими, ніж рівні енантіомеру R-(-). Співвідношення рівнів LM-1158 і R-(-)-кетопрофену в плазмі збільшувалося лінійно з часом, до 3 разів вище через 8 годин після введення. Рівні кожного енантіомеру в плазмі відповідали оральній двокомпартментальній моделі. Період напіввиведення становив 2,75 години для LM-1158 та 2,55 години для енантіомеру R-(-). Обидва енантіомери продемонстрували схожий видимий об'єм розподілу (приблизно 17 л.кг<sup>-1</sup>). Сечу збирали в інтервалі 0-16 годин після введення та вимірювали відсоток кожного енантіомеру. Протягом цього часу відсоток LM-1158 становив 93% від загальної кількості виведеного. Співвідношення рівнів обох енантіомерів у плазмі та сечі підтверджує, що інверсія енантіомеру R-(-) набагато вища, ніж у LM-1158.

#### **Фармакокінетика та інверсія пероральних енантіомерів 14C-LM-1158.TRIS і 14C-R(-)-ketoprofen.TRIS у мишей.**

Це дослідження встановило фармакокінетику плазми та енантіомерну біоінверсію окремих енантіомерів кетопрофену після перорального введення мишам. Було введено одноразову пероральну дозу 5 мг.кг<sup>-1</sup> 14C-R(-)-ketoprofen.TRIS або 14C-LM-1158.TRIS і зразки крові та сечі були отримані через різні періоди часу після введення. У всіх зразках плазми рівні обох енантіомерів були кількісно визначені рідинною сцинтиляцією після розділення за допомогою хіральної стаціонарної фазової ВЕРХ.

Результати: рівні обох енантіомерів у плазмі були отримані під час кожного лікування, що свідчить про те, що хіральна інверсія є двонаправленим процесом у цього виду. Відсоток інверсії становив приблизно 60% і 20% для енантіомерів R-(-) і S-(+) кетопрофену відповідно. Період напіввиведення LM-1158 після його введення становить 1,42 години, що відповідає періоду, отриманому для цього енантіомеру, коли він утворюється в результаті інверсії R-(-)-кетопрофену (1,64 години). Період напіввиведення енантіомеру R-(-)-кетопрофену після його введення становить 0,94 години, що також подібно до періоду, отриманого для цього енантіомеру в результаті інверсії LM-1158 (1,06 години). Очевидний кліренс LM-1158 і R-(-)-кетопрофену становив 202 і 180 мл.кг<sup>-1</sup>.год<sup>-1</sup> відповідно, а об'єми розподілу становили 414 і 244 мл.кг<sup>-1</sup> відповідно. Біодоступність обох енантіомерів при пероральному прийомі, розрахована на основі співвідношення перорального та внутрішньовенного введення (дослідження PK011), становила 100%.

#### **Дослідження фармакокінетики та інверсії внутрішньовенного 14C-LM-1158 і 14C R(-)-ketoprofen.TRIS у мишей**

Це дослідження встановило фармакокінетику плазми та біоінверсію енантіомерів кетопрофену після окремого внутрішньовенного введення Швейцарські миші-самці. Разова доза 1μCi (еквівалент 4,6 мг.кг<sup>-1</sup>) 14C R(-)-ketoprofen.TRIS або 14C-LM-1158.TRIS вводили внутрішньовенно, а зразки крові та сечі брали в різний час після введення. У цих зразках рівні

обох енантіомерів були кількісно визначені рідинною скінтиляцією після розділення за допомогою ВЕРХ з хіральною стаціонарною фазою.

Результати: рівні обох енантіомерів у плазмі були отримані під час кожного лікування, що свідчить про те, що інверсія є двонаправленим процесом у цього виду. Відсоток інверсії становив 71% для енантіомеру R-(-)-кетопрофену та 26% для LM-1158. Отримані значення інверсії подібні або навіть трохи вищі за ті, отримані в попередньому дослідженні (PK010), в якому обидва енантіомери вводилися per os, що підтверджує, що інверсія є переважно системною. Період напіввиведення LM-1158 після його введення становить 1,48 години, подібно до періоду, отриманого для цього енантіомеру, коли він утворюється в результаті інверсії R-(-)-кетопрофену (1,53 години). Період напіввиведення енантіомеру R-(-)-кетопрофену після його введення становить 1,04 години, що подібно до періоду, отриманого для цього енантіомеру в результаті інверсії LM-1158. TRIS (1,77 години). Плазмовий кліренс LM-1158 і R-(-)-кетопрофену становив 265 і 212 мл.кг<sup>-1</sup>.год<sup>-1</sup> відповідно, а об'єми розподілу — 568 і 468 мл.кг<sup>-1</sup> відповідно. Через 48 годин після введення 70,9 % загальної радіоактивності було виявлено в сечі після введення енантіомеру 14C LM-1158, 95,7 % відповідало енантіомеру LM-1158, а решта 4,3 % — R-(-)-кетопрофену; після введення R-(-)-кетопрофену ці відсотки становили 78,27 і 21,7% відповідно.

**Фармакокінетика енантіомеру R-(-)-кетопрофену (соль трометаміну) після одноразового перорального введення щурам.**

Дослідження вивчало фармакокінетику енантіомерів кетопрофену в плазмі після перорального введення одноразової дози трометамінової солі енантіомеру кетопрофену R-(-) (LM-1158. TRIS) самцям щурів Sprague-Dawley. Разову дозу 7,4 мг.кг<sup>-1</sup> кетопрофену енантіомеру R-(-) (еквівалентно 5 мг/кг кислотної форми) вводили щурам-самцям лінії Sprague-Dawley і зразки крові та сечі брали після різних пост-введення. разів. Рівні кетопрофену енантіомеру R-(-) та енантіомеру S-(+) (LM-1158) оцінювали за допомогою вискоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з використанням хіральної стаціонарної фази.

Результати: Рівні обох енантіомерів були отримані в зразках плазми, що підтверджує інверсію R-(-)-кетопрофену до його антипода LM-1158. Рівні енантіомеру R-(-)-кетопрофену в плазмі показали експериментальну максимальну концентрацію (16,6µг. мл<sup>-1</sup>) приблизно через 10 хвилин після введення, який потім швидко зменшувався, з періодом напіввиведення 2,07 години та середнім часом перебування 2,7 години. Рівні енантіомеру S-(+) (LM-1158), утвореного інверсією енантіомеру R-(-) у плазмі крові, досягають максимуму 24,83.µг. мл<sup>-1</sup> через 30 хвилин після введення. Відсоток інверсії енантіомеру кетопрофену R-(-), розрахований на основі AUC плазми, становить 80 %. Через 72 години після введення 40% загальної дози введеного енантіомеру R-(-) виявлялося в сечі у незміненому вигляді. Із загальної виведеної дози 68 % відповідає енантіомеру LM-1158, а решта 32 % — енантіомеру R-(-), співвідношення, подібне до відсотка інверсії, виміряного в плазмі.

**Фармакокінетика та інверсія енантіомеру R(-)-кетопрофену (соль трометаміну) після одноразового внутрішньовенного введення щурам.**

У цьому дослідженні досліджували фармакокінетику енантіомерів кетопрофену після внутрішньовенного введення щурам однієї дози R(-)-кетопрофену у формі солі трометаміну. Разову дозу 7,4 мг.кг<sup>-1</sup> кетопрофену енантіомеру R(-) (еквівалентно 5 мг/кг кислотної форми) вводили щурам-самцям лінії Sprague-Dawley і брали зразки крові та сечі в різні періоди часу після введення. Рівні енантіомерів кетопрофену R(-) і S(+)(LM-1158) оцінювали за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з використанням хіральної стаціонарної фази.

Результати: у зразках плазми були отримані рівні обох енантіомерів, що підтверджує інверсію R(-)-кетопрофену до його антипода LM-1158. Виходячи з рівня енантіомеру R(-) кетопрофену в плазмі, початкова концентрація 28,683μ.ml<sup>-1</sup>, було оцінено період напіввиведення 2,31 години та середній час перебування 1,8 години. Період напіввиведення та кліренс сполуки були подібними до тих, що були отримані після перорального введення (дослідження РК012). Рівні енантіомеру LM-1158 у плазмі, що утворюється шляхом інверсії енантіомеру R(-) кетопрофену, досягають максимуму через 30 хвилин після прийому. Відсоток інверсії енантіомеру кетопрофену R(-), розрахований на основі AUC плазми, становив 60 %. Коли порівнювали відсотки LM-1158 у плазмі в різні періоди часу після введення цього дослідження з тими, які були отримані після перорального введення R(-)-кетопрофену (дослідження РК012), суттєвих відмінностей не спостерігалось; це показує подібну інверсію енантіомеру R(-) для обох шляхів введення. Через 72 години після введення 14,2% загальної введеної дози виявлялося в сечі у незміненому вигляді. Із загального виведеного 81% відповідає енантіомеру LM-1158, а решта – енантіомеру R(-), співвідношення, подібне до відсотка інверсії, виміряного в плазмі.

**Фармакокінетика та біоінверсія енантіомерів кетопрофену у морських свинок після перорального введення**

У цьому дослідженні досліджували фармакокінетику енантіомерів S(+)-ketoprofen.TRIS (LM-1158.TRIS) і R(-)-ketoprofen.TRIS у морських свинок Dunkin-Hartley після окремого перорального введення в дозі 7,4 мг.кг<sup>-1</sup> мічені радіоактивним ізотопом енантіомери кетопрофену у формі їх солей трометаміну). Після введення загальний рівень радіоактивності вимірювали в плазмі та сечі за допомогою рідинної сцинтиляції. Крім того, плазмові рівні обох енантіомерів оцінювали за допомогою хіральної ВЕРХ.

Результати: рівні загальної радіоактивності в плазмі були однаковими після обох процедур. Після введення лише 14C-LM-1158.TRIS було отримано лише рівні LM-1158, тоді як після введення 14C-R(-)-ketoprofen.TRIS вимірювали рівні обох енантіомерів. Тому тільки R(-)-кетопрофен інвертується в плазмі; співвідношення AUC LM-1158, отриманого в результаті інверсії, до загальної AUC після введення кетопрофену R(-) дозволяє розрахувати інверсію на 29%. AUC рівнів загальної радіоактивності в плазмі крові вище, ніж AUC радіоактивності, приписаної енантіомерам. Цей факт свідчить про існування екстенсивного

метаболізму енантіомерів у цього виду. Період напіввиведення загальної радіоактивності з плазми становить близько 1 години для обох методів лікування, подібний до періоду, отриманого для рівнів LM-1158 і R-(-)-кетопрофену. В обох варіантах лікування близько 90% загальної введеної сполуки виявлялося в сечі через 48 годин після введення, підтверджуючи те, що це основний шлях виведення у морських свинок.

#### **Фармакокінетика та біоінверсія енантіомерів кетопрофену у морських свинок після внутрішньовенного введення.**

Це дослідження встановило фармакокінетику S-(+)-ketoprofen.TRIS (LM-1158.TRIS) і R-(-)-ketoprofen.TRIS у морських свинок після окремого внутрішньовенного введення в дозі 7,4 мг.кг<sup>-1</sup>. Обидві сполуки вводили з радіоактивною міткою <sup>14</sup>C. Після введення вимірювали загальну радіоактивність у плазмі та сечі. Рівні обох енантіомерів у плазмі також оцінювали за допомогою ВЕРХ.

Результати: рівні загальної радіоактивності в плазмі були подібними для обох методів лікування. Після введення <sup>14</sup>C-LM-1158.TRIS були отримані лише рівні LM-1158, тоді як після введення <sup>14</sup>C-R-(-)-ketoprofen.TRIS вимірювалися рівні обох енантіомерів. Отже, тільки кетопрофен R-(-) інвертується в плазмі. Співвідношення AUC LM-1158, отриманого в результаті інверсії, до загальної AUC після введення R-(-)-кетопрофену дозволяє розрахувати інверсію від 10 до 15 %. AUC рівнів загальної радіоактивності в плазмі крові вище, ніж AUC радіоактивності, приписаної енантіомерам. Період напіввиведення загальних рівнів радіоактивності становить близько 1 години для обох, тоді як ті, що відповідають рівням LM-1158 і R-(-)-кетопрофену, нижчі. Обидва дані підтверджують існування екстенсивного метаболізму енантіомерів кетопрофену у цього виду. Цей метаболізм буде енантіоселективним, оскільки сума AUC обох енантіомерів після введення R-(-)-кетопрофену на 50% нижча, ніж AUC LM-1158 після введення цього енантіомеру. Для обох процедур через 48 годин після введення приблизно 90% введеної радіоактивності виявлялося в сечі, підтверджуючи те, що це основний шлях виведення у морських свинок.

#### **Пероральна фармакокінетика енантіомерів кетопрофену у мавп *Сynomolgus***

У цьому дослідженні перевіряли фармакокінетику кетопрофену енантіомеру S-(+) (LM-1158) та його антипода R-(-)-кетопрофену у мавп *Сynomolgus* після перорального введення 3 мг.кг<sup>-1</sup> разової дози S-(+) або R-(-) енантіомери. Фармакокінетика активного енантіомеру LM-1158 була потім виміряна у цього виду після повторного введення доз декскетопрофену 3, 15 і 75 мг.кг<sup>-1</sup>. У дослідження одноразової дози було включено 3 тварини. Зразки плазми та сечі були отримані в різний час, і рівні обох енантіомерів у плазмі вимірювалися за допомогою хіральної ВЕРХ. Фармакокінетичні параметри обох енантіомерів у цього виду були оцінені за концентраціями в плазмі.

Результати одноразового застосування:

Після введення однієї дози LM-1158 були отримані лише рівні цього енантіомеру в плазмі та сечі. Максимальна концентрація LM-1158

	<p>(15,80µг, мл-1) досягалося через 18,60 хвилин після введення. LM-1158 швидко виводився з центрального відділу із середнім періодом напіврозпаду 2,32 години та кліренсом 3,50 мл/хв-1,кг-1. Виділення сполуки з сечею становило приблизно 30% від загальної кількості введеного, головним чином у вигляді глюкуроніду.</p> <p>Після одноразового введення R-(-)-кетопрофену були отримані рівні обох енантіомерів у плазмі та сечі. Максимальна концентрація R-(-)-кетопрофену була досягнута через 19,20 хвилин після введення, тоді як пік LM-1158 в результаті інверсії був приблизно через 30 хвилин. Період напіввиведення LM-1158 був подібним до періоду, отриманого після одноразового введення цього енантіомеру (2,95 години), тоді як R-(-)-кетопрофен показав менший період напіввиведення, 1,64 години. Відсоток інверсії, розрахований за співвідношенням AUC обох енантіомерів у плазмі крові, становив 49 %. Виведення з сечею було подібним до того, що спостерігалось після введення LM-1158. 72,7% від загального виділення в сечі відповідає LM-1158, що підтверджує високу інверсію енантіомеру R-(-).</p> <p>Результати багаторазового застосування:</p> <p>Дослідження багаторазових доз включало 8 тварин для кожної дози. Тварини отримували разову добову дозу 3, 15 або 75 мг.кг-1 протягом 180 днів; в останній день зразки крові були взяті в різний час і проаналізовані за допомогою хіральної ВЕРХ. Початкові середні рівні в плазмі в цей останній день були нижче 0,10µг.мл-1 у обробках 3 та 15 мг.кг-1 і не перевищувала 0,40µг.мл-1 після дози 75 мг.кг-1. Період напіввиведення був подібним для трьох процедур із діапазоном від 3,12 до 5,03 години. При оцінці фармакокінетичних результатів не було виявлено значущих статистичних відмінностей щодо статі. Період напіввиведення, об'єм розподілу та плазмовий кліренс були подібними для трьох доз. Значення AUC було лінійним у досліджуваному діапазоні доз, що свідчить про відсутність накопичення після повторного лікування високими дозами.</p>
5) виведення	
6) фармакокінетичні взаємодії (доклінічні)	Згідно з настановою CTD 2008 (NtA), звіти про патентовані дослідження для цього розділу не є обов'язковими (якщо вони були проведені, дослідження фармакодинамічної взаємодії лікарських засобів повинні бути коротко підсумовані в цьому розділі).
7) інші фармакокінетичні дослідження	
4. Токсикологія:	
1) токсичність у разі одноразового введення	<p><b>Вимірювання оральної LD50 LM-1158, рацемічного кетопрофену та його енантіомеру R-(-) у мишей</b></p> <p>Гостру токсичність продукту LM-1158 (декскетопрофен) вимірювали в порівнянні та викликали кетопрофеном та кетопрофеновим енантіомером R-(-) після перорального введення самцям швейцарських мишей. Дози, що викликають смертність у 50% тварин (LD50), були розраховані з 95%</p>

довірчими межами. Дози, використані для LM-1158 і для кетопрофену енантіомеру R(-), були: 50, 100, 141, 200, 283 і 400 мг/кг. У випадку кетопрофену дози становили 25, 50, 100, 200 і 400 мг/кг у вигляді одноразової добової дози в 1-й день дослідження. Продукти вводили перорально (10 мл/кг) у вигляді гомогенної пероральної суспензії в носії, що містить 0,9% бензилового спирту, 0,5% карбоксиметилцелюлози та 0,4% Твіну 80 у фізіологічному розчині.

Результати: за тваринами спостерігали протягом 14 днів. У контрольних групах смертності не було. Значення LD<sub>50</sub> для трьох продуктів для самців мишей були такими:

Product	LD <sub>50</sub>	Confidence limits	No. of total data (*)
LM-1158	364 mg/kg	521-254 mg/kg	60
Ketoprofen	192 mg/kg	282-130 mg/kg	50
Enantiomer R(-)	270 mg/kg	368-198 mg/kg	61

(\*) Excluding controls.

#### Тест на гостру оральну токсичність – визначення LD<sub>50</sub> у мишей – досліджувана речовина LM-1158

Гостру пероральну токсичність речовини LM-1158 (декскетопрофен) визначали на самцях і самках швейцарських мишей. Метод Літчфілда та Вілкоксона використовувався для розрахунку LD<sub>50</sub> (з 95% довірчими інтервалами) речовини на основі смертельних випадків, зареєстрованих протягом 14-денного періоду спостереження. Досліджувану речовину (натрієву сіль) вводили через зонд в об'ємі 10 мл/кг фосфатно-сольового буферного розчину при фізіологічному значенні рН.

Результати: Значення LD<sub>50</sub> для чоловіків і жінок разом і окремо через 14 днів після введення, а також його довірчі межі та нахили лінії регресії показані нижче:

Male and female mice:

LD<sub>50</sub>: 535.0 mg/kg (415.3 - 689.3 mg/kg)

S: 1.65

Male mice:

LD<sub>50</sub>: 445.8 mg/kg (276.6 - 718.5 mg/kg)

S: 1.95

Female mice:

LD<sub>50</sub>: 566.4 mg/kg (376.0 - 853.1 mg/kg)

S: 1.60

Смертні випадки, що спостерігалися при різних рівнях дозування, виникали протягом перших 9 днів після лікування. Максимальна допустима доза становила 125,0 мг/кг для самців і 250,0 мг/кг для самок.

Мінімальна доза, яка спричиняла смерть, становила 250 мг/кг для самців і

353,6 мг/кг для самок. Основними ознаками токсичності у мишей були атаксія, зниження рухової активності, викривлення хребта, пілоерекція, блідість, пальпебральний птоз, задишка та розширення живота. Під час розтину деякі тварини отримували 250, 500 та 1000 мг/мл. Кг показали шлунково-печінкові та шлунково-кишкові спайки та множинні спайки між нутрощами черевної порожнини.

**Тест на гостру оральну токсичність. Визначення LD50 у мишей.**

**Досліджувана речовина: кетопрофен**

Гостра пероральна токсичність субстанції кетопрофену була визначена на швейцарських мишах. Метод Літчфілда та Вілкоксона використовувався для розрахунку LD50 речовини на основі смертельних випадків, зареєстрованих протягом 14-денного періоду спостереження.

Досліджувану речовину (натрієву сіль) вводили через зонд в об'ємі 10 мл/кг фосфатно-сольового буферного розчину при фізіологічному значенні рН.

Результати: Значення LD50 речовини кетопрофену для чоловіків і жінок разом і окремо через 14 днів після введення, а також його довірчі межі та нахили лінії регресії показані нижче:

**Male and female mice:**

LD<sub>50</sub>: 474.9 mg/kg (328.7 - 686.0 mg/kg)

S: 2.32

**Male mice:**

LD<sub>50</sub>: 522.8 mg/kg (292.9 - 932.9 mg/kg)

S: 1.94

**Female mice:**

LD<sub>50</sub>: 450.3 mg/kg (264.2 - 767.7 mg/kg)

S: 2.62

Смертні випадки, що спостерігалися при різних рівнях дозування, виникали протягом перших 8 днів після лікування. Максимальна переносима доза становила 125,0 мг/кг для самців і 62,5 мг для самок. Мінімальна доза, яка спричиняла смерть, становила 250 мг/кг для самців і 125,0 мг/кг для самок. Основними ознаками токсичності у мишей були зниження рухової активності, атаксія, згорбленість спини, пілоерекція, блідість, пальпебральний птоз, задишка, прострація, клонічні судоми та розширення живота. Деякі тварини, які отримували 62,5, 250, 500 і 1000 мг/кг, продемонстрували незначне зниження маси тіла під час дослідження. Під час розтину в однієї самки, яка отримувала 500 мг/кг, виявилось збільшення селезінки, а в однієї самки, яка отримувала 2000 мг/кг, виявлено гематичний вміст у кишечнику. Жодних макроскопічних змін у тварин, які отримували решту доз, не спостерігалось.

**Вимірювання внутрішньовенного LD50 LM-1158, рацемічного кетопрофену та його енантіомеру R(-) у мишей.**

Дослідження проводилося на самцях швейцарських мишей вагою від 23 до 30 грамів і віком близько 5 тижнів. Дози, які вводили для цього дослідження, були наступними; 180, 250, 350, 500 і 710 мг/кг для кожної з досліджуваних речовин. Для кожного досліджуваного продукту використовували шість груп тварин. П'ять із груп отримували продукт у різних дозах. Решта групи отримувала транспортний засіб окремо і служила контрольною групою. LM-1158 (декскетопрофен), кетопрофен і кетопрофеновий енантіомер R(-) вводили одноразово внутрішньовенно шляхом ін'єкції водного розчину солей натрію у фосфатно-сольовому буферному розчині (10 мл/кг) у хвостову вену. Термін спостереження становив 14 днів. Виходячи зі смертності, яка спостерігалася в дослідженні, LD50 розраховували згідно з методом Літчфілда та Вілкоксона.

Результати. Значення LD50 трьох продуктів для самців швейцарських мишей були такими:

Product	LD <sub>50</sub>	Confidence limits	No. of total data (*)
LM-1158	338 mg/kg	514 - 292 mg/kg	98
Ketoprofen	312 mg/kg	394 - 248 mg/kg	103
Enantiomer R(-)	325 mg/kg	415 - 255 mg/kg	53

(\*) Excluding controls.

**Тест на гостру внутрішньовенну токсичність. Визначення LD50 у мишей. Досліджувана речовина: LM-1158**

Гостру внутрішньовенну токсичність субстанції LM-1158 визначали на мишах CD-1. Метод Літчфілда і Вілкоксона використовувався для розрахунку LD50 речовини на основі смертельних випадків, зареєстрованих протягом 14-денного періоду спостереження. Об'єкт дослідження вводили внутрішньовенно шляхом ін'єкції розчину натрієвої солі у фосфатно-сольовому буферному розчині (10 мл/кг) у хвостову вену.

Результати: Значення LD50 речовини LM-1158 для чоловіків і жінок разом і окремо через 14 днів після введення, а також його довірчі межі та нахили лінії регресії показані нижче:

Male and female mice:

LD<sub>50</sub>: 707.1 mg/kg (474.9 - 1052.9 mg/kg)

S: 2.05

Male mice:

LD<sub>50</sub>: 707.1 mg/kg (422.9 - 1182.2 mg/kg)

S: 2.05

Female mice:

LD<sub>50</sub>: 707.1 mg/kg (376.8 - 1327.0 mg/kg)

S: 2.05

Усі тварини, які отримували 2000,0 мг/кг, загинули одразу після введення. Смертні випадки, зареєстровані при застосуванні інших рівнів доз, відбулися протягом перших 5 днів після лікування. Максимально допустима доза становила 250 мг/кг як для самців, так і для самок. Мінімальна доза, яка спричиняла смерть, становила 500 мг/кг для обох статей. Основними клінічними ознаками, які спостерігалися під час дослідження, були: зниження рухової активності, атаксія, прострація, клонічні судоми, задишка, блідість, пілоерекція, згорбленість спини та ціаноз хвоста з подальшим некрозом і частковим або повним відшаруванням. Під час розтину у більшості тварин, які отримували дозу 2000 мг/кг, спостерігався застій легенів. Жодних внутрішніх макроскопічних ознак у решти тварин, які отримували досліджувану речовину, не спостерігалось.

**Тест на гостру внутрішньовенну токсичність. Визначення LD50 у мишей. Досліджувана речовина: кетопрофен**

Визначали гостру внутрішньовенну токсичність субстанції кетопрофену на мишах CD-1. Метод Літчфілда та Вілкоксона використовувався для розрахунку LD50 речовини на основі смертельних випадків, зареєстрованих протягом 14-денного періоду спостереження. Об'єкт дослідження вводили внутрішньовенно шляхом ін'єкції розчину натрієвої солі у фосфатно-сольовому буферному розчині (10 мл/кг) у хвостову вену.

Результати: Значення LD50 речовини кетопрофену для чоловіків і жінок разом і окремо через 14 днів після введення, а також його довірчі межі та нахили лінії регресії показані нижче:

**Male and female mice:**LD<sub>50</sub>: 570.0 mg/kg (530.8 - 612.1 mg/kg)

S: 1.39

**Male mice:**LD<sub>50</sub>: 485.7 mg/kg (433.3 - 544.4 mg/kg)

S: 1.26

**Female mice:**LD<sub>50</sub>: 586.7 mg/kg (513.9 - 669.8 mg/kg)

S: 1.51

Усі тварини, які отримували дози 1000,0 та 707,1 мг/кг досліджуваної речовини, загинули одразу після введення. Смертні випадки, зареєстровані при застосуванні інших рівнів доз, відбулися протягом перших 5 днів після лікування. Максимально допустима доза становила 250 мг/кг для самців і 500 мг/кг для самок. Мінімальна доза, яка спричиняла смерть, становила 500 мг/кг для самців і 545,2 мг/кг для самок. Основними клінічними ознаками, які спостерігалися під час дослідження, були: зниження рухової активності, атаксія, прострація, клонічні судоми, задишка, блідість, пілоерекція, згорбленість спини та ціаноз хвоста з подальшим некрозом і частковим або повним відшаруванням. Під час некроскопії у двох тварин, які отримували дозу 500 мг/кг, виявили шлунково-печінкові спайки. У більшості пацієнтів, які отримували дозу 1000 мг/кг, спостерігався застій легенів.

**Тест на гостру підшкірну токсичність. Визначення LD50 у мишей.  
Досліджувана речовина: LM-1158**

У мишей CD-1 визначали гостру підшкірну токсичність субстанції LM-1158 (декскетопрофен), яку вводили у фосфатно-сольовому буферному розчині (10 мл/кг). Значення LD50 речовини LM-1158 для чоловіків і жінок разом і окремо через 14 днів після введення, а також його довірчі межі та нахили лінії регресії показані нижче:

**Male and female mice:**LD<sub>50</sub> : 542.5 mg/kg (408.3 - 720.8 mg/kg)

S: 1.57

**Male mice:**LD<sub>50</sub> : 472.3 mg/kg (387.8 - 575.2 mg/kg)

S: 1.57

**Female mice:**LD<sub>50</sub> : 681.2 mg/kg (610.4 - 760.1 mg/kg)

S: 1.34

Смертні випадки, зареєстровані при застосуванні різних доз, відбулися протягом перших дев'яти днів після лікування. Максимальна переносима доза становила 125,0 для самців і 500,0 мг/кг для самок. Мінімальна доза, що спричинила смерть, становила 250,0 для самців і 594,6 мг/кг для самок. Основними клінічними ознаками, що спостерігалися, були: зниження рухової активності, атаксія, пілоерекція, блідість, прострація, птоз ока, алопеція та шишки в місці ін'єкції, задихка, а також згорблена спина та розширення живота у деяких тварин. Деякі тварини з груп доз 500,0, 594,6 і 707,1 мг/кг продемонстрували втрату маси тіла під час дослідження.

**Тест на гостру підшкірну токсичність. Визначення LD50 у мишей.  
Досліджувана речовина: кетопрофен**

На мишах CD-1 визначали гостру підшкірну токсичність субстанції кетопрофену, що вводилася у фосфатно-сольовому буферному розчині (10 мл/кг). Значення LD50 підшкірного кетопрофену для чоловіків і жінок разом і окремо через 14 днів після введення, а також його довірчі межі та нахили лінії регресії показані нижче:

**Male and female mice:**LD<sub>50</sub>: 431.8 mg/kg (251.9 - 740.1 mg/kg)

S: 2.62

**Male mice:**LD<sub>50</sub>: 416.0 mg/kg (270.9 - 638.8 mg/kg)

S: 3.15

**Female mice:**LD<sub>50</sub>: 613.5 mg/kg (423.0 - 889.8 mg/kg)

S: 1.82

Смертні випадки, зареєстровані при застосуванні різних рівнів дозування, сталися протягом перших чотирьох днів після лікування. Максимальна доза, яку переносили самці, становила 31,2 мг/кг, а самки — 250,0 мг/кг. Мінімальна доза, що спричинила смерть, становила 62,5 мг/кг для самців і

	<p>500,0 мг/кг для самок. Основними клінічними ознаками, що спостерігалися, були: зниження рухової активності, атаксія, пілоерекція, блідість і грудки в місці ін'єкції, а також клонічні судоми, задишка та прострація. Лише деякі тварини, які отримували дози 62,5 та 500,0 мг/кг, показали незначну втрату маси тіла. Під час розтину у деяких тварин виявлено кров'янистий вміст кишківника. В однієї тварини спостерігали перфорацію шлунка.</p>																																			
<p>2) токсичність у разі повторних введень</p>	<p><b>Токсикокінетичне дослідження на мишах. 28-денний пероральний прийом. Досліджувана речовина: LM-1158</b></p> <p>Субстанцію LM-1158 (декскетопрофен) вводили перорально через зонд мишам CD-1 лінії Crl:CD-1 (ICR) BR у дозах 15 і 30 мг/кг/добу сім днів на тиждень, протягом 4 тижнів поспіль. Крім того, субстанцію рацемічний кетопрофен вводили як референтну речовину в дозі 30 мг/кг/добу. Тваринам контрольної групи вводили фосфатно-сольовий буфер, фізіологічний рН, 10 мл/кг за тих самих умов, що й три інші групи. Мишей розподілили на чотири групи лікування.</p> <table border="1" data-bbox="448 792 1377 1008"> <thead> <tr> <th>GROUP</th> <th>SUBSTANCE</th> <th>Dose (mg/kg/day)</th> <th>Total no. of animals</th> <th>Sacrifice at end</th> <th>Kinetic day 1</th> <th>Kinetic day 28</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>Control</td> <td>-</td> <td>20 M + 20 F</td> <td>20 M + 20 F</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>LM-1158</td> <td>15</td> <td>100 M + 100 F</td> <td>10 M + 10 F</td> <td>45 M + 45 F</td> <td>45 M + 45 F</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>LM-1158</td> <td>30</td> <td>100 M + 100 F</td> <td>10 M + 10 F</td> <td>45 M + 45 F</td> <td>45 M + 45 F</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>Racemic Ketoprofen</td> <td>30</td> <td>100 M + 100 F</td> <td>10 M + 10 F</td> <td>45 M + 45 F</td> <td>45 M + 45 F</td> </tr> </tbody> </table> <p>Протягом четвертого тижня лікування проводили гематологічні та біохімічні аналізи 20 чоловіків і 20 самок з контрольної групи, а також 10 чоловіків і 10 самок кожної з трьох груп лікування. Крім того, були отримані зразки крові для кінетичного дослідження з груп лікування 2, 3 і 4 у наступний час: 0, 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2, 3, 5 і 8 годин після введення. Для кожного часу відбору проб використовували 5 самців і 5 самок. Екстракцію проводили на 1-й день лікування та, на різних тваринах, на 28-й день введення. Тварин, які відносяться до кінетичного дослідження дня 1, умиротворяли без розтину. Тварин, які залишилися в дослідженні, умиротворяли через 28 днів після введення та проводили аутопсію для визначення будь-яких можливих шлунково-кишкових змін, викликаних введенням досліджуваної речовини.</p> <p>Результати: Не було зареєстровано жодної смертності внаслідок обробки, проведеної речовиною LM-1158, а також референтною речовиною рацемічним кетопрофеном. Під час лікування помірна блідість іноді спостерігалася в одного самця, який отримував LM-1158 у дозі 15 мг/кг/день, у 12 самців і однієї самки, які отримували згадану речовину в дозі 30 мг/кг/день, і у 10 самців, які отримували лікування з рацемічним кетопрофеном у дозі 30 мг/кг/добу. Крім того, у деяких тварин іноді спостерігалася зниження рухової активності та згорбленість спини. Збільшення маси тіла у тварин, які отримували LM-1158 у дозах 15 і 30 мг/кг/день, а також серед тварин, які отримували рацемічний кетопрофен у дозі 30 мг/кг/день, було нормальним і подібним до зареєстрованого в контрольній групі. Гематологічні аналізи показали зниження рівня еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту у чоловіків і жінок, які отримували LM-1158 і рацемічний кетопрофен. Крім того, було зареєстровано статистично значуще збільшення кількості ретикулоцитів і тромбоцитів у самців, які отримували LM-1158 і рацемічний кетопрофен у</p>	GROUP	SUBSTANCE	Dose (mg/kg/day)	Total no. of animals	Sacrifice at end	Kinetic day 1	Kinetic day 28	1	Control	-	20 M + 20 F	20 M + 20 F	-	-	2	LM-1158	15	100 M + 100 F	10 M + 10 F	45 M + 45 F	45 M + 45 F	3	LM-1158	30	100 M + 100 F	10 M + 10 F	45 M + 45 F	45 M + 45 F	4	Racemic Ketoprofen	30	100 M + 100 F	10 M + 10 F	45 M + 45 F	45 M + 45 F
GROUP	SUBSTANCE	Dose (mg/kg/day)	Total no. of animals	Sacrifice at end	Kinetic day 1	Kinetic day 28																														
1	Control	-	20 M + 20 F	20 M + 20 F	-	-																														
2	LM-1158	15	100 M + 100 F	10 M + 10 F	45 M + 45 F	45 M + 45 F																														
3	LM-1158	30	100 M + 100 F	10 M + 10 F	45 M + 45 F	45 M + 45 F																														
4	Racemic Ketoprofen	30	100 M + 100 F	10 M + 10 F	45 M + 45 F	45 M + 45 F																														

дозі 30 мг/кг/день, порівняно з контрольною групою. У біохімічному аналізі спостерігалось значне зниження рівня альбуміну у чоловіків і самок, які отримували LM-1158 у дозі 30 мг/кг/день, порівняно з контрольною групою. Спостережувані відмінності були статистично значущими у чоловіків. Крім того, було зареєстровано значне підвищення рівня глюкози у самок, які отримували LM-1158 у дозі 30 мг/кг/день. Виконані аутопсії показали шлунково-кишкові зміни у двох тварин, які отримували LM-1158 у дозі 30 мг/кг/день, і в однієї тварини, яка отримувала рацемічний кетопрофен у дозі 30 мг/кг/день. Мікроскопічне дослідження зразків шлунка та кишечника тварин з макроскопічними змінами не виявило жодних гістопатологічних змін, пов'язаних із введенням субстанції LM-1158 у дозах 15 та 30 мг/кг/добу, а також субстанції рацемічного кетопрофену при дозі 30 мг/кг/добу.

Досліджувані елементи швидко всмоктувалися з піковими рівнями в плазмі (C<sub>max</sub>) під час першого відбору (0,25 години). Значення C<sub>max</sub> або площі під кривою (AUC) не відрізнялися між днями 1 і 28 або між статтю. Для LM-1158 ці значення були пропорційні дозі.

#### **Двадцятишеститижневе дослідження пероральної токсичності на мишах. Досліджувана речовина: LM-1158**

Речовину LM-1158 (декскетопрофен) вводили перорально через зонд мишам Cr:CD-1 (ICR)BR у дозах 3, 10 та 30 мг/кг/10 мл/день у фізіологічному фосфатному буфері 7 днів на тиждень протягом 26 тижнів поспіль. Мишей розподілили на 4 групи, включаючи контрольну групу, кожна спочатку містила 30 самців і 30 самок. Наприкінці 6 тижнів лікування було проведено аналіз 5 самців і 5 самок контрольної групи, 5 самців і 4 самок у групах доз 3 і 30 мг/кг/день і 4 самців і 4 самок при дозі 10 мг/кг/добу. Було проведено повне розтин цих тварин. Після 26 тижнів лікування було проведено аналіз 15 самців і 15 самок на групу, усіх згодом умертвили та провели повне розтин. Після закінчення лікування 5 самців і 5 самок з кожної групи залишали без лікування протягом 4 тижнів відновлення. Наприкінці цього періоду було проведено аналіз, усіх тварин умертвили та провели повне розтин.

#### **Результати:**

LM-1158, 30 мг/кг/день: Троє самців і одна самка загинули під час дослідження. Причина смерті цих тварин не пов'язана з лікуванням LM-1158. Блідість у більшості тварин спостерігалася тимчасово з другого тижня лікування. Також у деяких тварин спостерігалися сльозотеча, пілоерекція, згорбленість спини та зниження рухової активності. Приріст маси тіла у тварин був нормальним і подібним до такого у тварин контрольної групи. Середнє споживання їжі у самців і самок було дещо вищим, ніж у тварин контрольної групи. У дослідженні під час лікування спостерігалось зниження кількості еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту по відношенню до контрольної групи, а у відновному періоді – підвищення цих показників. Також кількість тромбоцитів збільшувалася по відношенню до тварин контрольної групи через 6, 12 і 26 тижнів лікування. Після періоду відновлення цей параметр не відрізнявся від контрольної групи, а показники гемоглобіну, кількості еритроцитів і гематокриту були дещо вищими, ніж у контрольній групі. На 26-му тижні лікування спостерігалось підвищення значень MCV і зниження

протромбінового часу відносно контрольної групи. У біохімічному аналізі, проведеному на 12-му та 13-му тижнях лікування, спостерігалось невелике зниження рівня білірубину та альбуміну відносно контрольної групи. Зниження рівня білірубину також було зафіксовано в аналізі, проведеному на 26 і 27 тижнях лікування. Також спостерігалось зниження рівня загальних білків і підвищення сечовини відносно контрольної групи. У період одужання рівень натрію дещо підвищився відносно контрольної групи, інших відмінностей у досліджуваних параметрах не спостерігалось. Під час аутопсії на 13-му тижні лікування макроскопічних змін не спостерігалось. При мікроскопічному дослідженні печінкових, ниркових, шлункових і кишкових зразків тварин, які отримували лікування протягом 13 тижнів, не було виявлено гістопатологічних уражень, пов'язаних із введенням досліджуваної речовини. У тварин, забитих після 26 тижнів лікування, у самців спостерігалось збільшення абсолютної та відносної маси печінки по відношенню до решти груп. Також спостерігалось збільшення абсолютної та відносної маси селезінки у самців, достовірно порівняно з контрольною групою. Жодних макроскопічних змін не спостерігалось під час розтину після 26 тижнів лікування. Під час мікроскопічних досліджень не було виявлено гістопатологічних ушкоджень, пов'язаних із введенням досліджуваної речовини. Після відновного періоду абсолютна і відносна маса печінки у самців була дещо вищою, ніж у контрольній групі. Жодних макроскопічних змін не спостерігалось під час розтину, проведеного після періоду відновлення. Під час мікроскопічних досліджень не було виявлено гістопатологічних ушкоджень, пов'язаних із введенням досліджуваної речовини.

LM-1158, 10 мг/кг/день: Двоє самців і дві самки померли під час лікування. Причина смерті цих тварин не пов'язана з введенням речовини LM-1158. З першого тижня лікування спостерігалася тимчасова блідість, у деяких тварин також була пілоерекція, згорблена спина, сльозотеча та алопеція. Ці клінічні ознаки також виникали тимчасово. Приріст маси тіла тварин був нормальним і подібним до контрольної групи. Середнє споживання їжі самцями було дещо вищим, а самками – трохи нижчим, ніж у тварин контрольної групи. При гематологічному дослідженні, проведеному на 6-му тижні лікування, спостерігалось незначне зниження рівня еритроцитів по відношенню до тварин контрольної групи. Жодних істотних відмінностей не спостерігалось в аналізі, проведеному на 12-13 і 26-27 тижнях лікування, а також протягом періоду відновлення. Не спостерігалось жодних статистично значущих відмінностей ні в біохімічному аналізі, проведеному під час лікування, ні в аналізі, проведеному в період відновлення. Жодних істотних відмінностей, пов'язаних з лікуванням, щодо абсолютної та відносної маси органів не спостерігалось. Жодних змін, пов'язаних із введенням досліджуваної речовини, не було зареєстровано ні в макроскопічних дослідженнях, проведених на тваринах, убитих наприкінці 13 і 26 тижнів лікування, ні в тих, принесені в жертву після періоду відновлення.

LM-1158, 3 мг/кг/день: Під час лікування троє самців і три самки померли. Причина смерті не пов'язана з введенням речовини LM-1158. З 20-го тижня лікування періодично спостерігалася блідість, у деяких тварин також спостерігалася пілоерекція, згорблена спина, тимчасове сльозотеча та алопеція. Приріст маси тіла тварин був нормальним і подібним до показників контрольної групи. Середнє споживання їжі самцями та

самками було трохи вищим, ніж у контрольній групі. У гематологічних і біохімічних аналізах, проведених на тижнях 6, 12-13, 26-27 і в період одужання, значущих статистичних відмінностей, пов'язаних з лікуванням, не спостерігалось. Жодних відмінностей, пов'язаних із введенням досліджуваної речовини, в абсолютній і відносній масі органів не спостерігалось. Жодних змін, пов'язаних із введенням речовини LM-1158, не спостерігалось під час макроскопічних досліджень, проведених на тваринах, убитих наприкінці 13-го та 26-го тижнів лікування, а також у тих, убитих після періоду відновлення.

**Фармакотоксикологічний звіт щодо речовини, що має протизапальну дію, для перорального введення: Досліджувана речовина: пропіонова-2 (3-бензоилфенолова) кислота (BFP)**

Це було спільне дослідження, проведене з пропіоново-2 (3-бензоїлфеніл) кислотою (відтепер скорочено BFP (=кетопрофен) за такими характеристиками препарату: 1) протизапальна активність, коли препарат вводиться в одній дозі (а) або в повторних дозах (b), 2) знеболювальна активність, 3) гостра токсичність 4) вплив тривалого лікування на щурів-альбіносів (64 дні у самців і 85 днів у самок) на масу тіла, гематологічні константи, функції печінки та нирок, азотемія та глікемія, плазматична електрофоретична картина та маса деяких органів, 5) можливі тератогенні ефекти.

Результати токсичності: Гостра токсичність: а) Швейцарська миша: при пероральному введенні у миші-альбіноса DL50 становить 900 (664-1220) мг/кг із нахилом 1,64 (1,23-2,19), а у самки — 705 (436-1139) мг/кг з нахилом 2,42 (1,33-4,39). Атаксія, втрата рефлексу відновлення та наркоз були спільними симптомами для обох статей. При розтині загинувих тварин виразок шлунково-кишкового тракту не виявлено. В) Щур Wistar: при пероральному введенні самцям щурів-альбіносів DL50 становить 68 (50-92) мг/кг із нахилом 1,97 (1,54-2,53), тоді як у самки він становить 110 (72-167) мг/кг з ухилом 1,92 (1,10-3,34). Спільними симптомами в обох статей були депресія та те, що тварини мали тенденцію «згоратися калачиком». Хутро щетинисте і тьмяне. При розтині виявлено виразки та спайки в кишковому тракті.

Вплив тривалого лікування на щурів (64 дні у самців і 85 днів у самок) на масу тіла, гематологічні константи, функцію нирок і печінки, азотемію, глікемію, електрофоретичну картину та масу деяких органів: при пероральному введенні в дозах, що відповідають 5,35 та 10,7 мг/кг, BFP не змінював криву росту ні в ні у чоловіків, ні у самок. Серед самців у контрольній групі загинуло 4 тварини, а серед тих, яким вводили БФП відповідно в дозах 5,35 і 10,7 мг/кг, загинуло 6 і 7 тварин. Не було змін гематологічних констант, функції печінки та нирок, азотемії та глікемії та електрофоретичної картини білка. Змін у вазі органів не спостерігалось. При поверхневому та аутопсичному оглядах пухлинних або будь-яких інших новоутворень не виявлено. Макроскопічне дослідження не виявило жодних змін у печінці та будь-якому з емунторних органів.

Можливі тератогенні ефекти:З даних, наведених у таблиці 12, можна побачити, що BFP в обох досліджуваних дозах не змінює параметри, що стосуються співвідношення між кількістю вагітних самок щурів і

кількістю тварин із виявленням сперматозоїдів у вагінальному мазку, кількістю плодів у терміні та кількістю резорбцій.

Effect of oral treatment with BFP from the 6th to 15th day of pregnancy on the number of resorptions

Treatment	No. of pregnant rats/No. of rats with spermatozoa in the vaginal stain	No. of rats with resorptions/No. of pregnant rats	No. of foetus/No. of pregnant rats	No. of resorptions/No. of foetus
Controls	19/23 (82,6%)	9/19 (47,4%)	218/19	12/218 (5,5%)
BFP 5,35mg/kg	25/28* (89,4%)	12/24 (50,0%)	192/24	21/192 (10,9%)
BFP 10,7mg/kg	28/31* (90,3%)	12/33 (36,4%)	262/33	20/262 (7,6%)

Серед тварин, які отримували дозу 5,35 мг/кг, три невагітні тварини загинули через наявність виразок у кишковому тракті. При застосуванні вищих доз (10,7 мг/кг) п'ять вагітних тварин загинули з тих самих причин. BFP так само не впливав на тривалість вагітності та не спричиняв смертність плоду більшу, ніж спостерігалася в контрольній групі. Крім того, це не спричинило жодного зменшення середньої кількості народжених живими на одну матір, ані середньої маси тіла новонароджених. Як уже спостерігалася в попередній групі, висока доза (10,7 мг/кг) спричинила смерть чотирьох вагітних тварин. Смерть настала внаслідок наявності виразок у шлунково-кишковому тракті. Дослідження, проведені після діафанізації та фарбування, не виявили вад розвитку скелета, так само як і попередній розтин не виявив вад розвитку органів кишечника. Починаючи з 21-ї доби лікування спостерігалася зниження темпів росту народжених тварин, яких вигодували матері, які отримували BFP у дозі 5,35 мг/кг/добу. Це зниження, однак, не досягає високозначних значень. Дві матері померли від цієї дози на 2-й і 14-й день після пологів. Смерть настала внаслідок наявності виразок у кишковому тракті. Починаючи з 7-го дня лікування спостерігається зниження темпів росту народжених тварин, яких вигодували матері, які отримували BFP у дозі 10,7 мг/кг/добу. Це зниження досягло дуже значних значень. При цій дозі матері помирали на 6, 8 і 9 добу після пологів. І в цьому випадку причиною смерті двох з них стала наявність виразок кишкового тракту. Оскільки середня маса тіла тварин, народжених від матерів, які отримували BFP, не відрізняється від маси тіла тварин, народжених від матерів, які не отримували лікування, здається сумнівним, що зниження швидкості росту можна віднести до посмертних ефектів токсичної активності. BFP та/або його метаболітів під час внутрішньоутробного життя. Натомість таке зниження слід пояснити можливими токсичними ефектами BFP та/або його метаболітів через їх секрецію в молоці або навіть, і це, можливо, є більш імовірною гіпотезою, зниженням секреції молока та/або наявності бажання з боку матерів, які страждали ураженням кишечника виразкового характеру, доїти новонародженого.

**Двадцятишеститижневе дослідження токсичності на мавпах *Synomolgus (Macaca fascicularis)* пероральним шляхом. Досліджувана речовина; LM-1158**

Досліджувану речовину, LM-1158 (декскетопрофен), продукт із протизапальною дією, вводили перорально через зонд мавпам *Synomolgus (Macaca fascicularis)* протягом двадцяти шести тижнів. Дози становили 3, 15 і 75 мг/кг/6 мл/день у фізіологічному фосфатному буфері. Кожна група

складалася з 4 чоловіків і 4 самок. Контрольна група, яка також складалася з 4 чоловіків і 4 жінок, отримала лише транспортний засіб.

Результати: LM-1158, 75 мг/кг/день: смертність не зареєстрована. Спостерігалася збільшення кількості та інтенсивності шкірних виразок на хвості та кінцівках, а також прихованої крові у калі. Середнє збільшення маси тіла було приблизно на 50% нижче, ніж у контрольній групі. Офтальмоскопічних змін внаслідок лікування не спостерігалася. Загальна кількість моноцитів зростала, досягаючи статистично значущих відмінностей відносно контрольної групи з нормальними зареєстрованими значеннями. Спостерігалися тимчасові середні рівні сечовини, що значно перевищували показники контрольної групи. Середні рівні альбуміну та середній коефіцієнт альбумін/глобулін знижувалися відносно контрольної групи, досягаючи статистично значущих відмінностей. Жодних помітних коливань параметрів сечі не було зареєстровано. Змін маси органу не спостерігалася. У двох тварин спостерігалася виразка шлунка, а в іншій – ерозія шлунка. Також у двох тварин були виявлені вогнищеві ерозії на слизовій оболонці товстого кишечника, розташовані в сліпій та/або товстій кишці. LM-1158, 15 мг/кг/день: смертність не зареєстрована. Спостерігалася незначне збільшення крові в калі. Середнє збільшення маси тіла було дещо гіршим, ніж у контрольній групі. При офтальмоскопії змін не спостерігалася. При гематологічних дослідженнях змін не зафіксовано. Спостерігалася тимчасове підвищення рівня сечовини. Жодних помітних коливань параметрів сечі не спостерігалася. Змін маси органу не спостерігалася. Ніяких гістопатологічних змін внаслідок лікування не спостерігалася. LM-1158, 3 мг/кг/день: смертності не спостерігалася. Жодних спостережуваних змін у здоров'ї чи поведінці тварин не зареєстровано. Збільшення маси тіла було нормальним. При офтальмоскопії змін не спостерігалася. Жодних змін при гематологічному або серообстеженні не виявлено. Жодних помітних коливань параметрів сечі не спостерігалася. Змін маси органу не спостерігалася. Ніяких гістопатологічних змін внаслідок лікування не спостерігалася.

Підсумовуючи, пероральне введення LM-1158 у дозах 3, 15 і 75 мг/кг/день протягом двадцяти шести тижнів не викликало смертності. При дозі 75 мг/кг/день кількість крові у фекаліях та виразкових уражень шкіри хвоста та кінцівок 1, які часто зустрічаються у цих тварин, що містяться, зростає. Приріст маси тіла був значно гіршим, ніж у контрольній групі. Підвищення кількості моноцитів і, тимчасово, рівня сечовини. Рівень альбуміну та співвідношення альбумін/глобулін знизилися. У трьох тварин виявлено виразково-ерозивні ураження шлунка. У двох тварин спостерігалися вогнищеві ерозії слизової оболонки сліпої та/або товстої кишки. При дозі 15 мг/кг/добу спостерігалася невелике підвищення крові у фекаліях. Середній приріст маси тіла був дещо нижчим, ніж у контрольній групі. Спостерігалася тимчасове підвищення рівня сечовини. Жодних змін не спостерігалася при дозі 3 мг/кг/день, яка вважається дозою, що не має токсичних ефектів.

**Чотиритижневе дослідження внутрішньовенної токсичності на мавпах *Суномолгус (Macaca fascicularis)*. Досліджувана речовина: LM-1158.TRIS**

Досліджувану речовину LM-1158.TRIS (декскетопрофен трометамол) внутрішньовенно вводили мавпам Суномолгус протягом 28 днів. Введені

рівні дози становили 10, 32 і 100 мг/кг/день в об'ємі 1,5 мл/кг зі швидкістю інфузії 0,2 мл/с. Носієм був стерильний фізіологічний розчин. Дози виражені в мг діючої речовини (LM-1158). Контрольна група отримала виключно автомобіль. Кожна група лікування складалася з 3 чоловіків і 3 самок.

Результати Доза: 100 мг/кг/день: смертність не зареєстрована. У досліджуваних зонах були зареєстровані локальні зміни, основними показниками яких були, з одного боку, прогресуючі труднощі з пошуком придатних для використання судин, а з іншого боку, набряки в деяких кінцівках, зареєстровані у чотирьох тварин у другій половині лікування. період, ймовірний наслідок випадкової екстравазації досліджуваної речовини. Екстравазацією досліджуваної речовини також можна віднести виразку, зареєстровану в одній із зон введення в однієї тварини. Маса тіла однієї тварини дещо зменшилася, не показуючи значних відмінностей відносно контрольної групи в еволюції середньої маси тіла. Під час офтальмоскопічного обстеження не спостерігалось жодних змін, пов'язаних з лікуванням. Середні значення еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту були дещо нижчими за норму, причому в однієї тварини значення були явно нижчими за норму. Рівні загального білка і альбуміну, а також співвідношення альбумін/глобулін знижувалися порівняно з контрольною групою, досягаючи суттєвих відмінностей середніх значень альбуміну та співвідношення альбумін/глобулін. В аналізах сечі змін не виявлено. Вага печінки була дещо вищою, ніж у контрольній групі, досягаючи значних відмінностей при розгляді відносної ваги самців. Маса нирок в однієї тварини була більшою за норму, а середня відносна вага самців була значно більшою, ніж у контрольній групі. У чотирьох тварин виявлено виразково-ерозивні ураження слизової оболонки тіла шлунка та пілоричного антрального відділу. Ці зміни коливалися від ерозій, що вражали поверхневу третину слизової оболонки, до глибокої виразки, яка проникала до м'язового шару без перфорації серозної оболонки. Доза: 32 мг/кг/день: смертності не спостерігалось. Жодних помітних змін у фізичному стані чи поведінці тварин зафіксовано не було. Приріст маси тіла нормальний. Жодних очних змін не зафіксовано. Середня кількість еритроцитів і середнє значення гемоглобіну знизилися порівняно з контрольною групою, хоча статистично значущих відмінностей не було зафіксовано. Жодних змін, пов'язаних з лікуванням, не було зареєстровано в аналізах сироватки та сечі. Жодних змін, пов'язаних з лікуванням, не було зареєстровано у вазі органів. У однієї тварини виявлена ерозія шлунка, яка вразила поверхневу третину слизової оболонки. Доза: 10 мг/кг/день: смертність не зареєстрована. Ніяких помітних змін у стані та поведінці тварин не зафіксовано. Приріст маси тіла нормальний. Жодних очних змін не зафіксовано. У гематологічному аналізі не було зафіксовано жодних змін, пов'язаних з лікуванням. В аналізі сироватки не було виявлено жодних змін, пов'язаних з лікуванням. В аналізі сечі не було виявлено жодних змін, пов'язаних з лікуванням. Жодних змін, пов'язаних з лікуванням, не було зареєстровано у вазі органів. Жодних гістопатологічних змін, пов'язаних з лікуванням, не спостерігалось.

У підсумку, введення LM-1158.TRIS у дозі 100 мг/кг/добу діючої речовини (LM-1158) протягом 28 днів провокувало виразково-ерозивні ураження шлунка у чотирьох із шести оброблених тварин. Практично у всіх тварин цієї групи зареєстрована анемія. У групі, якій вводили LM-1158.TRIS у дозі 32 мг/кг/добу діючої речовини (LM-1158), серед самок

	було зареєстровано незначне зниження середньої кількості еритроцитів і середнього значення гемоглобіну. Лише в однієї тварини зафіксовано ерозію слизової оболонки шлунка. Серед тварин, яким вводили досліджувану речовину в дозі 10 мг/кг/день активної речовини (LM-1158), не спостерігалось жодних змін, пов'язаних з лікуванням. Цю дозу можна вважати нетоксичною.				
3) генотоксичність: in vitro	<p><b>Мутагенез у <i>Salmonella Typhimurium</i>. Тест Еймса. Досліджувана речовина: LM-1158</b></p> <p>Штами <i>Salmonella typhimurium</i> TA-1535, TA-1537, TA-98 і TA-100 обробляли шістьма різними дозами досліджуваної речовини LM-1158 партія №. RD0008 (декскетопрофен), згідно з методом планшетів, описаним Ames. Кожну дозу тестували в трьох примірниках з додаванням і без додавання системи метаболічної активації при 10% у стандартних кофакторах. Рівні дози в експериментах 1 і 2 були між 312,5 і 10000µг LM-1158 на пластину. Два експерименти проводили в різні дні, використовуючи свіжі бактеріальні культури та свіжоприготовані хімічні розчини для кожного експерименту. На всіх чашках, оброблених лише розчинниками (негативні контролю), були отримані нормальні значення підрахунку ревертантних колоній. Усі речовини, використані як позитивний контроль, викликали збільшення кількості ревертантів, як із системою активації метаболічної системи, так і без неї. Випробувані концентрації були визначені на основі токсичності речовини. Максимальна досліджена доза становила 100 мг/мл. Ця концентрація показала токсичність для всіх штамів, крім TA-100 з S-9. Жодної мутагенної реакції не спостерігалось для жодного зі штамів, протестованих у будь-якому з експериментів, з системою метаболічної активації чи без неї.</p> <p><b>Хромосомні аберації в клітинах яєчників китайського хом'яка in vitro. Досліджувана речовина: LM-1158.TRIS</b></p> <p>Досліджувану речовину LM-1158 (декскетопрофен) перевіряли на здатність викликати хромосомні пошкодження в клітинах яєчників китайського хом'яка після обробки in vitro за відсутності та присутності метаболічної активації S9. Аналіз на хромосомні пошкодження проводили з використанням дозових рівнів 10000, 4640, 2150, 1000, 464, 215, 100 і 46,4µг/мл. Ті самі рівні дози використовували для лікування за відсутності та присутності метаболізму S9. Розчини досліджуваної речовини готували на живильному середовищі Хема. Експерименти включали відповідні негативний і позитивний контролю. За відсутності метаболізму S9 клітини обробляли протягом усього клітинного циклу та збирали через 24 години. У присутності S9 час обробки становив 3 години, але використовували два періоди збору (12 і 24 години). У кожній тестовій точці готували дві культури клітин. Рівні доз були обрані для оцінки хромосомних аберацій на основі цитотоксичності обробок досліджуваної речовини (як визначено зниженням мітотичного індексу). Вибрані рівні лікування:</p> <table data-bbox="454 1881 1316 1982"> <tr> <td>Absence of S9 metabolism</td> <td>: 215, 464 and 1000 µg/ml</td> </tr> <tr> <td>Presence of S9 metabolism</td> <td>: 1000, 2150 and 4640 µg/ml</td> </tr> </table> <p>Сто метафазних розповсюджень оцінювали для хромосомних аберацій з кожної тестової культури. Оцінку було припинено на 50 метафазних</p>	Absence of S9 metabolism	: 215, 464 and 1000 µg/ml	Presence of S9 metabolism	: 1000, 2150 and 4640 µg/ml
Absence of S9 metabolism	: 215, 464 and 1000 µg/ml				
Presence of S9 metabolism	: 1000, 2150 and 4640 µg/ml				

	<p>розповсюдженнях для повторних культур, оброблених позитивними контролями через 24 години відбору зразків, оскільки понад 50% клітин містили аберації (крім прогалин). Не спостерігалось статистично значущого збільшення кількості клітин, що мають аберації, після лікування LM-1158.TRIS при будь-якому рівні дози, обраному для оцінки за відсутності або за наявності метаболізму S9. Статистично значуще збільшення абераційних клітин спостерігалось після обробки позитивним контролем мітоміцином-С і циклофосфамідом, що вказує на правильне функціонування системи аналізу. Зроблено висновок, що LM-1158.TRIS не індукує хромосомні аберації в клітинах яєчників китайського хом'яка після обробки in vitro за відсутності або присутності метаболічної активації в зазначених експериментальних умовах.</p> <p><b>Генна мутація в клітинах v79 китайського хом'яка. Досліджувана речовина: LM-1158.TRIS</b></p> <p>Випробуваний матеріал LM-1158.TRIS перевіряли на мутагенну активність шляхом аналізу на індукцію стійких до 6-тіогуаніну мутантів у китайських клітинах v79 після обробки in vitro (за наявності чи відсутності метаболічної активації S9). Було проведено попередній аналіз на цитотоксичність. Досліджувану речовину аналізували при максимальному рівні дози 10000 мкг/мл і широкому діапазоні нижчих рівнів доз, розділених двократними інтервалами. Після лікування за відсутності метаболізму S9 сильна токсичність спостерігалась при найвищому рівні дози. За наявності метаболізму S9 сильна токсичність спостерігалась при двох найвищих дозах. На підставі цих результатів були обрані концентрації 7500 і 3750 мкг/мл для лікування за відсутності та присутності метаболізму S9 відповідно. Було проведено два незалежні аналізи на мутацію резистентності до 6-тіогуаніну. За відсутності метаболізму S9 застосовували дози 7500, 5000, 2500, 1250, 625 і 313 мкг/мл. Рівні дози 3750, 2500, 1250, 625, 313 і 156 мкг/мл використовувалися за наявності метаболізму S9. Після лікування як за відсутності, так і за наявності метаболізму S9 спостерігалось залежне від дози зниження виживання, яке досягало приблизно 48% і 28% від контрольного значення при найвищому рівні дози відповідно. Не спостерігалось п'ятикратного збільшення кількості мутантів або частоти мутацій на будь-якому рівні лікування досліджуваною речовиною за відсутності або присутності метаболізму S9. Помітне підвищення було отримано при лікуванні позитивним контролем, що вказує на правильне функціонування системи аналізу. Зроблено висновок, що LM-1158.TRIS не індукує генні мутації в клітинах v79 китайського хом'яка in vitro за відсутності або присутності метаболічної активації S9 у зазначених експериментальних умовах.</p>
<p>in vivo (включаючи додаткову оцінку з токсикокінетики)</p>	<p>Дослідження генотоксичності in vitro див. у модулі 4.3:</p> <p><u>ФіліпосБ, Сінг Р, Хан К.А, Гірі А.К.</u> Порівняльна мутагенна та генотоксична дія трьох похідних пропіонової кислоти ібупрофену, кетопрофену та напроксену. <i>Mutat Res.</i> 1997 вересня 18;393(1-2):123-31.</p> <p><u>КогаТ, Фудзівара Р, Накадзіма М, Йокой Т.</u> Токсикологічна оцінка ацилглюкуронідів нестероїдних протизапальних препаратів з використанням клітин 293 ембріональної нирки людини, що стабільно експресують UDP-</p>

	<p>глюкуронозилтрансферазу людини, і гепатоцитів людини. Препарат Метаб Диспос. Січень 2011;39(1):54-60.</p> <p>Кулліч В, Кляйн Г. Дослідження впливу нестероїдних протиревматичних засобів на показники сестринсько-хроматидного обміну. Mutat Res. Червень 1986 р.; 174 (2): 131-4.</p>
4) канцерогенність:	<p>Відповідно до ICH S1A дослідження канцерогенності не потрібні для препаратів, які вводяться лише протягом обмеженого часу (фармацевтичних препаратів, очікуване клінічне застосування яких триває менше 6 місяців). Однак дослідження канцерогенності див. також у модулі 4.3:</p> <p>Монографія про кетопрофен, AA Pharma Inc, 24 січня 2011 р Orudis (кетопрофен) капсула, Wyeth Pharmaceuticals Inc. USPI січень 2007 р.</p>
довгострокові дослідження	Оскільки згідно з ICH S1A дослідження канцерогенності не потрібні, довгострокові дослідження для вибору доз у базових дослідженнях не потрібні.
короткострокові дослідження або дослідження середньої тривалості	Оскільки згідно з ICH S1A дослідження канцерогенності не потрібні, короткі чи середньострокові дослідження для вибору доз у базових дослідженнях не потрібні.
додаткові дослідження	
5) репродуктивна токсичність та токсичний вплив на розвиток потомства:	<p><b>Тератологічні дослідження на кроликах. Досліджувана речовина: LM-1158.TRIS</b></p> <p>Речовину LM-1158.TRIS вводили перорально через зонд новозеландським білим кроликам-альбіносам з 6 по 18 день вагітності в дозах 2,5, 5 і 10 мг/кг/день. Кетопрофен.ТРИС у дозі 10 мг/кг/добу використовували як референтну речовину. Тварин контрольної групи лікували бідистильованою водою за тих самих умов, що й інші групи лікування.</p> <p>Результати. LM-1158.TRIS, 10 мг/кг/день: серед вагітних самок, які отримували цю дозу, смертності не було. Єдиною спостережуваною клінічною ознакою була легка діарея в однієї з самок. Приріст маси тіла був нижчим, ніж у тварин контрольної групи, з достовірними статистичними відмінностями від 11 дня до кінця періоду вагітності. Крім того, споживання їжі в період з 6 по 18 день вагітності було помітно нижчим, ніж у контрольній групі. При розтині в однієї з вагітних виявлено застій слизової оболонки шлунка. При гістеректомії самок, які прибули до кінця лікування, було зареєстровано зменшення загальної кількості живих плодів, а також збільшення відсотка втрат після імплантації, і спостережувані відмінності були статистично значущими. Також зареєстровано зниження середньої маси тіла плода та збільшення числа резорбції відносно контрольної групи. Для самок у посліді виявлено морфологічні та вісцеральні зміни. Одна з самок представила в посліді акаудальний плід. Зазначена тварина демонструвала незначну кількість</p>

грудних хребців (6) і відсутність поперекових, крижових і хвостових хребців, що супроводжувалося підковоподібними нирками, злегка розширеними сечоводами та задніми кінцівками меншого розміру, ніж зазвичай. Також зазначена самка представила в посліді мертвий плід. У другій жінки був плід із цефалоцеле, мікроцефалією, синофтальмією та риноцефалією. Інша самка, яка отримала цю дозу, представила в посліді два плоди з вовчим піднебінням, що супроводжувалося в одного з них зовнішньою гідроцефалією, аненцефалією та відсутністю нюху. Третій плід цього посліду продемонстрував розрив внутрішньої гідроцефалії та злитий нюховий мозок. Крім того, у четвертій жінки народився плід із розщепленим піднебінням. При спостереженні за скелетом спостерігалось збільшення відсотка плодів із погано окостенілими стернебрами та додатковими або рудиментарними стернебрами, а також відсутні або рудиментарні кістки передніх і задніх кінцівок та асиметричне зміщення поперекових півхребців відносно контрольної групи. LM-1158.TRIS, 5 мг/кг/день: серед вагітних самок, які отримували цю дозу, смертності не було. Основними клінічними ознаками, які спостерігалися, були незначна транзиторна діарея у двох самок, яка супроводжувалася в однієї з них блідістю, виділенням слизу з носа, втратою маси тіла та гнійними виділеннями з піхви. Крім того, в однієї з самок, які отримували цю дозу, стався аборт на 28 день вагітності. Приріст маси тіла був нижчим, ніж у самок контрольної групи, зі значними статистичними відмінностями, що спостерігалися з 11 дня до кінця вагітності. Крім того, споживання їжі в період з 6 по 18 день вагітності було помітно нижчим, ніж у контрольній групі. При розтині вагітних самок макроскопічних змін не спостерігалось. При гістеректомії у жінок, які надійшли в кінці лікування, спостерігалось зменшення загальної кількості живих плодів і середньої маси тіла їх. Також було зареєстровано збільшення відсотка втрат після імплантації та кількості резорбцій відносно контрольної групи. Одна із самок, яких лікували у цієї лані, представила плід із прикріпленням до спини хвостом. Крім того, одна вагітна самка, яка отримувала цю дозу, перервала вагітність на 28 день, а у двох інших у посліді був один мертвий плід. Морфологічних змін при огляді голівки плода не виявлено. При скелетному спостереженні зареєстровано відсоткове збільшення плодів з погано окостенілими стернебрами та додатковими або рудиментарними стернебрами. Також спостерігалось збільшення відсотка плодів із відсутніми або рудиментарними кістками передніх кінцівок і задніх кінцівок та асиметричним зміщенням поперекових півхребців відносно контролю без достовірних відмінностей щодо зазначеної групи. LM-1158.TRIS, 2,5 мг/кг/день: одна з вагітних самок, які отримували цю дозу, була знайдена мертвою на 21 день вагітності. Під час лікування ця тварина показала блідість, діарею, слиз з носа та втрату маси тіла. На 21-й день вагітності спостерігалася задишка та протрація з подальшою смертю. При розтині виявлено множинні ерозії слизової оболонки шлунка та перфоративну виразку тіла шлунка. У другій жінки, яка отримувала цю дозу, спостерігався застій слизової оболонки шлунка. Приріст маси тіла самок був дещо меншим, ніж у контрольній групі з 7 по 22 добу вагітності. Також спостерігалось незначне зниження споживання їжі щодо зазначеної групи з 6 по 12 день. При гістеректомії у самок, які надходили в кінці лікування, спостерігалось незначне зменшення загальної кількості живих плодів, а також незначне збільшення кількості живих плодів. спостерігали відсоткові втрати після імплантації по відношенню до контрольної групи. У двох вагітних самок, які отримували цю дозу, у посліді був мертвий плід. У досліджених плодів скелетних і

морфологічних змін не виявлено. Ketoprofen.TRIS, 10 мг/кг/день: смертності вагітних самок, які отримували цю дозу, не було. Основними клінічними ознаками, що спостерігалися, були транзиторна легка блідість та зниження м'язового тону у однієї із самок. Друга тварина, яку отримували таку дозу, абортувала на 22 день вагітності. Також випадкова діарея спостерігалася у двох інших самок і носовий слиз у іншій самки. Приріст живої маси був меншим, ніж у тварин контрольної групи, з достовірними відмінностями від 6-ї доби до кінця гестації. Крім того, спостерігалася помітне зниження споживання їжі в період з 6 по 18 день вагітності по відношенню до контрольної групи. Жодних макроскопічних змін у вагітних самок при розтині не виявлено. При гістеректомії самок, що надійшли до кінця лікування, було зареєстровано зменшення загальної кількості живих плодів і збільшення відсотка втрат після імплантації по відношенню до контрольної групи, які показали значні відмінності. Також спостерігалася зниження середньої живої маси тіла плода та збільшення кількості резорбцій відносно контрольної групи. Морфологічні дослідження плодів виявили зміни в трьох послідах. Одна із самок представила плід із розщепленим піднебінням, мікрофтальмією та односторонньою апрозопією, анотією, екзенцефалією, мікроцефалією та арененцефалією, коротким хвостом, задніми кінцівками менше норми та talipes varus. Друга самка представила один мертвий плід у посліді та два інших плоди з легкою внутрішньою гідроцефалією. Крім того, в іншій жінки, яка отримувала лікування, був плід із помірною внутрішньою гідроцефалією. У скелетних спостереженнях спостерігалася збільшення відсотка плодів із погано окостенілими грудинними хребцями, а також відсутнім або неповним окостенінням поперекових півхребців. Контроль: Загибелі тварин цієї групи не зафіксовано. Клінічних ознак у вагітних цієї групи не виявлено. У двох вагітних самок був мертвий плід. Жоден з обстежених плодів не виявив морфологічних чи скелетних змін. Морфологічних змін при дослідженні голів плодів не виявлено. Висновки: Досліджувану речовину LM-1158.TRIS вводили перорально кроликам-альбіносам з 6 по 18 день вагітності в дозі 5 і 10 мг/кг/день, а також контрольна речовина кетопрофен. TRIS, введений у тій самій дозі, продемонстрували токсичність для самок, що оцінюється за помітною втратою маси тіла та помітним зменшенням споживання їжі. Також LM-1158.TRIS у дозі 10 мг/кг/день спричиняє ембріотоксичний ефект. Зазначеними ефектами були зменшення кількості та маси тіла живих плодів та збільшення кількості резорбцій відносно контрольної групи. Також спостерігалася збільшення відсоткових втрат після імплантації. У групі, яка отримувала LM-1158.TRIS у дозі 5 мг/кг/день, спостерігалися такі самі ефекти, хоча й у меншому ступені. При дозі 2,5 мг/кг/день спостерігалася збільшення відсоткових втрат після імплантації порівняно з контрольною групою, і, як наслідок, було менше живих плодів, хоча суттєвих відмінностей не було. Досліджувана речовина кетопрофен. TRIS у дозі 10 мг/кг/день спричиняла ембріотоксичний ефект, який оцінювався за збільшенням ранньої резорбції, зменшенням кількості живих плодів і збільшенням відсотка постімплантаційних втрат. Ембріофетальна токсичність цієї речовини при дозі 10 мг/кг/день коливається від 5 до 10 мг/кг/день Im-1158.TRIS. У групі, яка отримувала LM-1158.TRIS у дозі 10 мг/кг/день, спостерігалися морфологічні, вісцеральні та скелетні зміни порівняно з контрольною групою. Ці зміни оцінювали за такими ознаками: вовча паща, важка внутрішня гідроцефалія, зовнішня гідроцефалія, синофтальмія, риноцефалія, анотія, нюховий мозок відсутній або злитий, аненцефалія, мікроцефалія, відсутність хвоста, хребців і

	<p>підковоподібних нирок. Також зареєстровано погано окостенілі груднини, рудиментарні або додаткові груднини, асиметричне зміщення поперекових півхребців, розміри задніх кінцівок менше норми та кінцівки з рудиментарними або відсутніми кістками. У групі вагітних самок, які отримували LM-1158.TRIS у дозі 5 мг/кг/день, такі зміни, як погано окостенілі груднини, рудиментарні або додаткові груднини, а також відсутність або рудиментарні кістки кінцівок реєструвалися рідше, ніж у групі вагітних жінок. вищезгадана група. Також один плід показав, що його хвіст прилягає до спини. Жодних морфологічних, скелетних або вісцеральних змін не було зареєстровано у досліджених плодів, що належать до групи, яка отримувала LM-1158.TRIS у дозі 2,5 мг/кг/день. У групі, яка отримувала ketoprofen.TRIS у дозі 10 мг/кг/день, спостерігалися морфологічні, вісцеральні та скелетні зміни порівняно з контрольною групою з відсотком від 5 до 10 мг/кг/день LM-1158.TRIS: Ці зміни оцінювали за такими ознаками: вовча паща, внутрішня гідроцефалія від легкої до помірної, мікрофтальмія, апрозопія, анотія, екзенцефалія, мікроцефалія, ариненцефалія. Також зареєстровано погано окостенілі поперекові півхребці.</p>
<p>вплив на фертильність і ранній ембріональний розвиток</p>	<p>Наступні документи надають інформацію про фертильність (див. мод. 4.3)</p> <p><u>Кетопрофен</u> Монографія про продукт, AA Pharma Inc, 24 січня 2011 р</p> <p><u>Орудіс</u>(кетопрофен) капсула, Wyeth Pharmaceuticals Inc. USPI січень 2007 р.</p>
<p>ембріотоксичність</p>	<p><b>Звіт про дослідження токсичності плода з використанням 2-(3-бензоілфеніл)-пропіонової кислоти (кетопрофену)</b></p> <p>Тридцять самок новозеландських білих кроликів були використані як дослідні тварини та були злучені з самцями того самого поголів'я. У міру злучки самок розділили на 3 групи по 10 тварин у кожній. Перша група являла собою контрольну групу і отримувала звичайний гранульований корм, тоді як друга і третя групи отримували їжу, що містила 2-(3-бензоілфеніл) пропіонову кислоту (група 2: 5,35 мг/кг; група 3: 10,7 мг)/Кг). Лікування проводили з 8-го по 18-й день вагітності. На 19 добу тільності тварин пригнічували і проводили лапаротомію для очищення матки. Після екстракції проводили спостереження за плодами щодо їх кількості та життєздатності; в той же час також було перевірено, чи відбулися реабсорбції. Плоди були піддані ретельному макроскопічному дослідженню.</p> <p>Результати. Результати цього дослідження показали, що 2-(3-бензоілфеніл)-пропіонова кислота має певну токсичність для плода, оскільки групи, які отримували дві різні дози, продемонстрували початок певної кількості реабсорбцій та мацерацій, які не були виявлені в контрольній групі. Крім того, слід зазначити, що в той час як у контрольній групі та у 2-й групі не спостерігалось мертвого плоду, у 3-й групі, яка отримувала 10,7 мг/кг, спостерігалось 3 смерті. З іншого боку, ніяких вад розвитку різних органів або скелета виявлено не було. Узагальнюючи результати, слід зазначити, що 10 тварин, які отримували звичайну їжу, народили в цілому 85 дитинчат; їхня середня вага становила 48,287 грама, а середня довжина хвоста становила 15 мм. Друга група кроликів, які отримували дозу 5,35 мг/кг, народила 61 дитинчат із середньою вагою 42,450 г і довжиною хвоста 13,58 мм. Різниця порівняно з контрольними тваринами повинна</p>

пояснюватися тим фактом, що одна тварина не була вагітною, так що загальні середні значення зменшилися, тоді як суттєвих відмінностей щодо окремих значень не існує. У третій групі тварин приплід становив 44 одиниці, і це падіння пояснюється високою кількістю реабсорбцій та мацерацій. Крім того, у цій групі спостерігалось 3 смерті. Таким чином, на підставі цих спостережень можливу тератогенну дію можна виключити. З іншого боку, існування певної токсичності для плода не можна виключити, це є спільною рисою речовин, які мають протизапальну дію.

#### **Тератогенність кетопрофену у макак-резусів**

Вплив кетопрофену на плід макак-резус перевіряли шляхом повторного перорального введення препарату через зонд 1 раз на добу з 23-го по 35-й день гестації. Тридцять і 150 мг/кг отримували 3 мавпи кожна. Двох необроблених мавп використовували як контроль. На 59-61 добу вагітності шляхом операції кесаревого розтину видаляли плоди, спостерігали масу тіла, зріст і зовнішні вади розвитку плодів, масу, розміри і зовнішній вигляд плаценти.

Результати: у двох мавп у групі введення 150 мг/кг/день спостерігалася аномальна кровотеча після введення; у однієї з цих мавп стався аборт, а в іншій мавпи спостерігалось часткове відшарування та некроз плаценти. Вагітність мавпи, у якої стався аборт, була наступною: оцінка вагітності, яка була проведена через 20 днів після спарювання, діагностика вагітності за допомогою пальпації матки, яка була проведена через 30 днів після вагітності, були позитивними; крім того, безперервна кровотеча, яка спостерігається під час нормальної вагітності (кровотеча під час вагітності), може спостерігатися, починаючи з 18 дня після спарювання, і вагітність була підтверджена. Протягом періоду після введення препарату на 30-й і 31-й дні вагітності спостерігалася сильна кровотеча приблизно 5 кл крові, а при пальпації, проведеної на 40-й день вагітності, було зроблено висновок про затримку розвитку або смерть плода. Крім того, на 45 день вагітності спостерігалася сильна кровотеча, а на 46 день вагітності – виділення плаценти. При пальпації, проведеної на 50 день вагітності, встановлено, що матка скоротилася до розмірів невагітної матки. З наступного курсу було зроблено висновок, що переривання продовження вагітності відбулося під час періоду введення ліків, і, здається, введення ліків мало сильний зв'язок з абортom. В іншого пацієнта в групі застосування 150 мг/кг/день досить сильна кровотеча могла спостерігатися з 32 по 36 день вагітності, але вагітність тривала. При кесаревому розтині, проведеному на 59 день вагітності, спостерігалось часткове відшарування та некроз плаценти. Оскільки вищезазначені перешкоди спостерігалися у двох із трьох суб'єктів у групі прийому 150 мг/кг/день, вважається, що існує ймовірність того, що застосування великих доз кетопрофену на ранніх термінах вагітності може вплинути на вагітність, продовження, викликаючи відшарування плаценти тощо. Однак у трьох суб'єктів у групі прийому 30 мг/кг/добу розвиток плода під час вагітності був нормальним, і, здається, така доза не впливає на продовження вагітності. За винятком суб'єкта в групі прийому 150 мг/кг/день, у якого стався аборт, плоди двох інших суб'єктів у цій групі та трьох суб'єктів у групі прийому 30 мг/кг/день усі продемонстрували нормальний розвиток і не мали тенденції до можна було помітити затримку внутрішньоутробного розвитку, яка була спричинена введенням

препарату. Крім того, як у групі прийому 150 мг/кг/день, так і в групі прийому 30 мг/кг/день у жодного з суб'єктів не спостерігалось зовнішніх або скелетних вад розвитку плода. З наведених вище результатів було зроблено висновок, що кетопрофен не є тератогенним для вагітних мавп-резус.

**Попереднє тератологічне дослідження на мишах. Досліджувана речовина: LM-1158.TRIS**

Субстанцію LM-1158.TRIS (декскетопрофен трометамол) мишам CD-1 вводили перорально через зонд з 6 по 15 день (включно) вагітності в дозах 5, 10, 20 і 40 мг/кг/добу. Як референтну речовину використовували кетопрофен.TRIS у дозі 40 мг/добу. Миші контрольної групи отримували бідистильовану воду в тих же умовах, що й п'ять інших груп.

Результати. LM-1158.TRIS, 40 мг/кг/день: смертність серед вагітних самок не зареєстрована. Жодних клінічних ознак, пов'язаних з лікуванням, не було зафіксовано. Приріст маси тіла був подібним до показника контрольної групи. Жодних макроскопічних змін під час розтину вагітних самок не спостерігалось. При гістеректомії у зазначених самок було повідомлено про невелике збільшення відсотка резорбцій та постімплантаційних втрат порівняно з контрольною групою. Зовнішніх морфологічних змін у досліджуваних плодів не виявлено. LM-1158.TRIS, 20 мг/кг/день: смертність серед вагітних самок не зареєстрована. Жодних клінічних ознак, пов'язаних з лікуванням, не було зафіксовано. Приріст маси тіла був подібним до показника контрольної групи. Жодних макроскопічних змін під час розтину вагітних самок не спостерігалось. При гістеректомії у зазначених самок було повідомлено про невелике збільшення відсотка резорбцій та постімплантаційних втрат порівняно з контрольною групою. Зовнішніх морфологічних змін у досліджуваних плодів не виявлено. LM-1158.TRIS, 10 мг/кг/день: смертність серед вагітних самок не зареєстрована. Жодних клінічних ознак, пов'язаних з лікуванням, не було зафіксовано. Приріст маси тіла був подібним до показника контрольної групи. Жодних макроскопічних змін під час розтину вагітних самок не спостерігалось. При гістеректомії у зазначених самок спостерігалось невелике збільшення відсотка резорбцій і постімплантаційних втрат відносно контрольної групи та зниження відсотка живих плодів. Зовнішніх морфологічних змін у досліджуваних плодів не виявлено. LM-1158.TRIS, 5 мг/кг/день: смертність серед вагітних самок не зареєстрована. Жодних клінічних ознак, пов'язаних з лікуванням, не було зафіксовано. Приріст маси тіла був подібним до показника контрольної групи. Жодних макроскопічних змін під час розтину вагітних самок не спостерігалось. При гістеректомії у зазначених самок було повідомлено про невелике збільшення відсотка резорбцій та постімплантаційних втрат порівняно з контрольною групою. Одна самка представила плід меншого розміру, ніж решта посліду. Зовнішніх морфологічних змін у досліджуваних плодів не виявлено. Ketoprofen.TRIS, 40 мг/кг/день: смертність серед вагітних самок не зареєстрована. Жодних клінічних ознак, пов'язаних з лікуванням, не було зафіксовано. Приріст маси тіла був подібним до показника контрольної групи. Жодних макроскопічних змін під час розтину вагітних самок не спостерігалось. При гістеректомії у зазначених самок було повідомлено про невелике збільшення відсотка резорбцій та постімплантаційних втрат порівняно з контрольною групою. Зовнішніх морфологічних змін у

досліджуваних плодів не виявлено. Контроль: Загибелі вагітних самок не зафіксовано. Клінічних ознак у вагітних не зареєстровано. Жодних макроскопічних змін при розтині самок цієї групи не спостерігалось. Одна самка представила в посліді плід з підшкірною гематомою на правій задній кінцівці. Висновки: субстанція LM-1158.TRIS у дозах 5, 10, 20 та 40 мг/кг/добу, а також референтна речовина кетопрофен.TRIS у дозі 40 мг/кг/добу не спровокували смертності, а також будь-яких змін у масі тіла та споживанні їжі. Було зареєстровано невелике збільшення відсотка резорбції та постімплантаційних втрат серед вагітних жінок, які отримували LM-1158.TRIS та кетопрофен.TRIS у введених дозах. Найбільше збільшення спостерігалось серед самок, які отримували LM-1158.TRIS у дозах 5 і 10 мг/кг/день, так що відмінності не корелювали із введеними дозами. Зовнішніх морфологічних змін у плодів у вагітних жінок, які отримували речовину LM-1158.TRIS, а також у тих, хто отримував кетопрофен.TRIS у різних дозах лікування, не було зареєстровано.

#### **Попереднє тератологічне дослідження на щурах. Досліджувана речовина: LM-1158.TRIS**

Субстанцію LM-1158.TRIS (декскетопрофен трометамол) вводили перорально через зонд щурам лінії Wistar з 6 по 15 день (включно) вагітності в дозах 1, 2,5, 5, 8, 10 і 20 мг/кг/добу As еталонну речовину кетопрофен.TRIS використовували в дозі 8 і 20 мг/кг/добу. Щури контрольної групи отримували носій, використаний для розчинення досліджуваних речовин, і контрольні речовини (бідистильована вода) у тих самих умовах, що й вісім інших груп.

Результати: LM-1158.TRIS, 20 мг/кг/день: Вагітна самка, яку отримували цю дозу, була знайдена мертвою на 11 день вагітності. З 7-го дня вагітності спостерігалася блідість, яка змінювалася від помірної до сильної. Також перед загибеллю тварини фіксували пілоерекцію, зниження рухової активності, зниження м'язового тону, згорбленість спини та темний кал. Зменшення маси тіла було зареєстровано після першого введення (6-й день вагітності) і до 11-го дня вагітності, коли зазначену самку було знайдено мертвою. Споживання їжі з 6 по 10 день вагітності було нижчим за норму. При розтині вагітної виявлено шлунково-кишкові спайки. Під час гістеректомії зазначена самка представила ембріони розміром, який відповідав дню вагітності, коли зазначену самку було знайдено мертвою. LM-1158.TRIS, 10 мг/кг/день: одна з п'яти самок, які отримували цю дозу, була знайдена мертвою на 11-й день вагітності. У жінки знижений м'язовий тонус, помірна блідість, пілоерекція, слъзотеча. Приріст маси тіла в період від 6 до 20 дня вагітності був меншим, ніж у самок контрольної групи. Спостережувані відмінності не були істотними. При проведених аутопсіях в однієї з вагітних самок спостерігалися шлунково-кишкові спайки, а в іншій тварини – діафрагмальна грижа. При гістеректомії у зазначених самок було зареєстровано незначне збільшення відсотка резорбції та постімплантаційних втрат відносно контрольної групи без істотних відмінностей щодо зазначеної групи. Одна з самок представила в посліді плід із підшкірною гематомою в каудальній області - LM-1158.TRIS, 8 мг/кг/день: смертності серед вагітних самок, які отримували цю дозу, не було. У трьох вагітних спостерігалася помірна блідість, у деяких з них темний кал і знижений м'язовий тонус. Збільшення маси тіла та

споживання їжі були подібними до таких у самок контрольної групи. Під час розтину вагітних самок макроскопічних змін не зафіксовано. При гістеректомії у зазначених самок зафіксовано збільшення відсотка резорбцій та постімплантаційних втрат відносно контрольної групи без достовірних відмінностей щодо зазначеної групи. Зовнішніх морфологічних змін у досліджуваних плодів не виявлено. LM-1158. TRIS, 5 мг/кг/день: смертності серед вагітних самок, які отримували цю дозу, не було. Клінічних ознак, пов'язаних з лікуванням, не було зафіксовано. Приріст маси тіла в період між 6 і 20 днями вагітності був меншим, ніж у контрольній групі. Споживання їжі було таким же, як і в контрольній групі. Жодних макроскопічних змін під час розтину вагітних самок не спостерігалось. При гістеректомії у зазначених самок суттєвих відмінностей щодо згаданої групи не спостерігалось. Зовнішніх морфологічних змін у досліджуваних плодів не виявлено. LM-1158. TRIS, 2,5 мг/кг/день. Смертності серед вагітних самок, які отримували цю дозу, не було. Клінічних ознак, пов'язаних з лікуванням, не було зафіксовано. Збільшення маси тіла та споживання їжі були такими ж, як у контрольній групі. Жодних макроскопічних змін під час розтину вагітних самок не спостерігалось. При гістеректомії у зазначених самок достовірних відмінностей в оцінюваних параметрах відносно контрольної групи не спостерігалось. Одна самка, введена в такій дозі, дала в посліді 4 плоди з підшкірними гематомами. Також на одному з них були виявлені підковоподібні нирки, вальгусна талипа правої задньої кінцівки, ектопія яєчок, відсутність під'язикової кістки та множинні зміни хребців, грудин, лобка та ребер. LM-1158. TRIS, 1 мг/кг/день: смертності серед вагітних самок, які отримували цю дозу, не було. Клінічних ознак, пов'язаних з лікуванням, не було зафіксовано. Приріст маси тіла в період з 6 по 20 день вагітності був дещо нижчим, ніж у контрольній групі. Споживання їжі було таким же, як і у жінок контрольної групи. Жодних макроскопічних змін під час розтину вагітних самок не спостерігалось. При гістеректомії у зазначених самок зафіксовано незначне збільшення відсотка резорбцій і постімплантаційних втрат, а також незначне зниження відсотка живих плодів відносно контрольної групи. Одна самка представила в посліді плід з підшкірними гематомами на обличчі. Ketoprofen. TRIS, 20 мг/кг/день: три вагітні самки, які отримували цю дозу, померли протягом 11-12 днів вагітності. З 7-го дня вагітності реєструється блідість, зміни змінюються від незначних до виражених. Також перед загибеллю тварин реєстрували пілоерекцію, зниження рухової активності, зниження м'язового тону, згорбленість спини та темний кал. Також спостерігалися залишки крові на морді та в області геніталій однієї самки, якій ввели цю дозу. Зниження маси тіла реєструвалося після другого введення (7-й день вагітності) і до 11-12 дня вагітності, на якому зазначені самки загинули. Споживання їжі з 6 по 10 день вагітності було значно нижчим за норму. При розтині вагітних самок зареєстровані шлунково-кишкові спайки в однієї з них з перфорацією шлунка. При гістеректомії у вагітних самок ембріони мали розмір, що відповідає дню вагітності, в який зазначені самки загинули. Ketoprofen. TRIS, 8 мг/кг/день: не було зареєстровано смертності серед самок, які отримували цю дозу. У двох вагітних виявилася легка блідість. Збільшення маси тіла та споживання їжі були такими ж, як у самок контрольної групи. При розтині вагітних самок макроскопічних змін не зареєстровано. При гістеректомії зазначених самок достовірних відмінностей оцінюваних показників відносно контрольної групи не було. Зовнішніх морфологічних змін у спостережуваних плодів не виявлено. Контроль: смертності вагітних самок цієї групи не зафіксовано.

Клінічних ознак у вагітних не зафіксовано. Жодних макроскопічних змін при розтині самок цієї групи не спостерігалось. Зовнішніх морфологічних змін у спостережуваних плодів не виявлено. Висновки. Досліджувана субстанція LM-1158.TRIS у дозі 1, 2,5, 5 та 8 мг/кг/добу, а також референтна субстанція кетопрофен.TRIS у дозі 8 мг/кг/добу не провокували смертності та будь-яких змін у споживанні їжі серед вагітних самок. Також не було зареєстровано жодних змін у розтині самок, які отримували зазначені дози. Одна з 5 самок, які отримували LM-1158.TRIS у дозі 10 мг/кг/день, самка, якій вводили зазначену речовину в дозі 20 мг/кг/день, і три самки, які отримували кетопрофен.TRIS у дозі 20 мг/кг/день, були знайдені мертвими між 11 і 12 днями вагітності. Під час розтину спостерігалися шлунково-кишкові спайки, які супроводжувалися перфорацією шлунка в однієї із самок, які отримували кетопрофен.TRIS у вказаній дозі. Збільшення маси тіла у самок, які отримували LM-1158.TRIS у дозах 2,5 та 8 мг/кг/день, а також у тих, хто отримував кетопрофен.TRIS у дозі 8 мг/кг/день, було нормальним і подібним до зареєстрованого в дослідженні контрольна група. Серед вагітних самок, які отримували LM-1158.TRIS у дозах 1 і 5 мг/кг/добу, було зареєстровано менший приріст маси тіла порівняно з контрольною групою в період між 6-м і 20-м днями вагітності. Збільшення маси тіла вагітних самок, які отримували речовину LM-1158.TRIS у дозі 10 мг/кг/день у період з 6 по 20 день вагітності, було нижчим, ніж у контрольній групі. Крім того, споживання їжі зазначеними самками між 6-10 днями вагітності було нижчим, ніж у контрольній групі. Одна жінка, яка отримувала згадану дозу, показала зниження м'язового тону, сильну блідість, пілоерекцію та сльозотечу. Серед вагітних самок, які отримували LM-1158.TRIS і кетопрофен.TRIS у дозі 20 мг/кг/день, спостерігалось зниження маси тіла після одного і двох введень відповідно і до смерті зазначених самок. Споживання їжі вагітними самками, які отримували зазначені дози, було набагато нижчим, ніж зазвичай. Основними клінічними ознаками були сильна блідість, пілоерекція та зниження м'язового тону, згорбленість спини та темний кал. Серед тварин, які отримували LM-1158.TRIS і кетопрофен.TRIS, зареєстровано незначне збліднення. Жодних клінічних ознак серед самок, які отримували LM-1158.TRIS у дозах 5, 2,5 та 1 мг/кг/день, не спостерігалось. Під час макроскопічних спостережень, проведених під час гістеректомії, було зареєстровано збільшення відсотка резорбцій та постімплантаційних втрат серед самок, які отримували LM-1158.TRIS у дозах 1, 8 та 10 мг/кг/день щодо контрольна група. Спостережувані відмінності не корелювали із введеними дозами. Не було зареєстровано жодних зовнішніх морфологічних змін, пов'язаних із лікуванням, серед плодів самок, яким вводили LM-1158.TRIS у дозах 1, 5, 8 та 10 мг/кг/день, а також серед тих, хто отримував кетопрофен.TRIS на 8 мг/кг/добу. Один із плодів однієї із самок, які отримували LM-1158.TRIS у дозі 2,5 мг/кг/день, продемонстрував зовнішні морфологічні зміни (вальгусний таліп, рудиментарний хвіст і, очевидно, незначне окостеніння дистальної половини хребта) і вісцеральні зміни (підковоподібні нирки та позаматкові яєчка). Тварину очищали гідроксидом калію та фарбували алізариновим червоним S і реєстрували зміни скелета (відсутність під'язикової кістки та множинні зміни хребців, грудин, лобка та ребер). Не було зареєстровано зовнішніх морфологічних змін у решти плодів, що стосуються посліду, обробленого LM-1158.TRIS у дозі 2,5 мг/кг/день. На основі отриманих результатів запропоновано дозу 8 мг/кг/добу як максимальну для введення під час дослідження тератології на щурах.

пренатальна і постнатальна токсичність	Дослідження не проводилися, оскільки кетопрофен, декскетопроф та всі нестероїдні протизапальні препарати протипоказані в третьому триместрі (пізня фаза) вагітності																		
дослідження, при яких препарат уводиться потомству (нестатевозрілим тваринам) та/або оцінюється віддалена дія																			
б) місцева переносимість	<p><b>Внутрішньовенна толерантність у кроликів. Досліджувана речовина: розчин LM-1158.TRIS</b></p> <p>Визначали ступінь подразнення вен розчином субстанції LM-1158.TRIS (декскетопрофену трометамолу) при введенні в крайову вену вуха кролів. Були створені наступні групи лікування:</p> <table border="1" data-bbox="451 880 1262 994"> <thead> <tr> <th>GROUP</th> <th>SUBSTANCE</th> <th>Dose mg/kg</th> <th>Volume ml/kg</th> <th>Animals per group</th> <th>No. of admin.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 to 3</td> <td>LM-1158.TRIS solution</td> <td>6.67</td> <td>0.267</td> <td>3</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>LM-1158.TRIS solution</td> <td>3.33</td> <td>0.133</td> <td>3</td> <td>5</td> </tr> </tbody> </table> <p>Дози виражені в мг діючої речовини (LM-1158): Після введення досліджуваної речовини клінічних ознак не було зареєстровано. Дві тварини, які отримували одноразове лікування, одну забили через 24 години, а іншу через 48 годин після введення, трохи зменшили вагу тіла. Не було зареєстровано особливих змін у масі тіла тварин, які отримували щодня протягом п'яти днів поспіль. Жодних макроскопічних змін у досліджуваних зонах під час розтину помічено не було. На ділянках, оброблених досліджуваною речовиною, гістопатологічне дослідження виявило наявність внутрішньовенного лейкоцитарного інфільтрату в однієї тварини, яка отримувала 6,67 мг/кг, забитої через 48 годин після лікування, та перивенозного лейкоцитарного інфільтрату, венозного тромбозу та перивенозного набряку в іншій тварини обробляли такою ж дозою і забивали через 96 годин після введення. Одна тварина, якій вводили 3,33 мг/кг протягом 5 днів, також виявила внутрішньовенний лейкоцитарний інфільтрат. Висновки: одноразове внутрішньовенне введення розчину LM-1158.TRIS у дозі 6,67 мг/кг протягом 5 послідовних днів у дозі 3,33 мг/кг спричинило дуже незначні зміни неспецифічного характеру у невеликого відсотка тварин, які отримували лікування.</p> <p><b>Внутрішньом'язова толерантність у кроликів. Досліджувана речовина; Розчин LM-1158.TRIS і ліофілізований LM-1158.TRIS</b></p> <p>Це дослідження встановило ступінь внутрішньом'язового подразнення, викликаного розчином речовин LM-1158.TRIS (декскетопрофен трометамол) і ліофілізованим LM-1158.TRIS, продуктами з протизапальною активністю, при введенні в бічний м'яз кролика. Референтною речовиною був розчин рацемічного кетопрофену для ін'єкцій (Ogudis®). Були створені наступні групи лікування:</p>	GROUP	SUBSTANCE	Dose mg/kg	Volume ml/kg	Animals per group	No. of admin.	1 to 3	LM-1158.TRIS solution	6.67	0.267	3	1	4	LM-1158.TRIS solution	3.33	0.133	3	5
GROUP	SUBSTANCE	Dose mg/kg	Volume ml/kg	Animals per group	No. of admin.														
1 to 3	LM-1158.TRIS solution	6.67	0.267	3	1														
4	LM-1158.TRIS solution	3.33	0.133	3	5														

Group	Substances	No. animals	No. administrations	Dose (mg/kg)	Sacrificed after the last administration (h)
1	LM-1158.TRIS Solution	3	1	10	24
2	Lyophilized LM-1158.TRIS				
3	ORUDIS®				
4	LM-1158.TRIS Solution	3	1	10	72
5	Lyophilized LM-1158.TRIS				
6	ORUDIS®				
7	LM-1158.TRIS Solution	3	1	10	120
8	Lyophilized LM-1158.TRIS				
9	ORUDIS®				
10	LM-1158.TRIS Solution	3	5	5	24
11	Lyophilized LM-1158.TRIS				
12	ORUDIS®				

Дози виражені в мг діючої речовини (LM-1158, також відомого як S-(+)-кетопрофен або декскетопрофен).

Результати: смертності не зафіксовано. Серед тварин, які отримували ліофілізований LM-1158.TRIS, як при одноразових, так і при повторних дозах, була зареєстрована випадкова наявність м'якого калу. Маса тіла тварин, оброблених лише ліофілізованим LM-1158.TRIS і забитих через 72 та 120 годин після введення, дещо зменшилася. Середня маса тіла груп, які отримували повторні дози кожної з речовин, що вводилися, дещо зменшувалася під час лікування. У тварин, які отримували одноразове введення розчину LM-1158.TRIS, макроскопічні зміни, що спостерігалися в тестових зонах, варіювалися від помірної гіперемії та зміни кольору (ступінь = 2) до поширеного некрозу з аспектом «вареного м'яса» (ступінь = 5). Ураження, зареєстровані у тварин, яким вводили ліофілізований LM-1158.TRIS, варіювалися від помірної гіперемії та зміни кольору (ступінь = 2) до коричневої дегенерації з невеликим некрозом (ступінь = 4). У тварин, які отримували Орудіс® зміни варіювалися від чіткої зміни кольору порівняно з навколишньою територією (ступінь=3) до поширеного некрозу з виглядом «вареного м'яса» (ступінь 5). Середня інтенсивність змін, спричинених речовинами, після одноразового введення, досягла свого максимального значення через 72 години після введення, за винятком змін, спричинених розчином речовини LM-1158.TRIS, який мав такий же середній ступінь подразнення. через 24 години та 72 години після лікування. Максимальне середнє подразнення викликало речовина Orudis® із середнім балом 5,0 (сильне подразнення), тоді як максимальне середнє подразнення серед тварин, які отримували розчин LM-1158.TRIS і ліофілізований LM-1158.TRIS, було значного ступеня (оцінки 4,3 і 4,0 відповідно). Ступінь змін, що спостерігалися в м'язах, які отримували повторні дози розчину LM-1158.TRIS, становила 1 (легка гіперемія та зміна кольору) або 3 (виразна зміна кольору порівняно з навколишньою областю). Серед тварин, яким вводили ліофілізований LM-1158.TRIS, ураження варіювалися між чіткою зміною кольору порівняно з навколишньою територією (ступінь = 3) і поширеним некрозом з виглядом «вареного м'яса» (ступінь = 5). Усі м'язи, оброблені Orudis®, мали коричневу дегенерацію з невеликим некрозом (ступінь=4). Таким чином, середнє подразнення, викликане повторним введенням розчину LM-1158.TRIS, було помірним (8 клас=2), а подразнення, зареєстроване в м'язах, оброблених ліофілізованим LM-1158.TRIS і Orudis®, було позначене (клас=4). У двох тварин, оброблених розчином LM-1158.TRIS лише один раз і забитих через 24 години після обробки, спостерігалися ураження шлунково-кишкового тракту ерозивно-

виразкового характеру. У трьох тварин, яким вводили ліофілізований LM-1158.TRIS, одна була забита через 24 години після лікування, а дві були забиті через 72 години, спостерігалися ерозивно-виразкові ураження шлунково-кишкового тракту. Цей тип ураження також був зареєстрований у трьох тварин, які отримували Orudis®, убитих через 24 години після лікування, і у двох, убитих через 72 години. У двох тварин, які отримували ліофілізований LM-1158.TRIS з повторними дозами, виявлено ерозивно-виразкові ураження шлунково-кишкового тракту. Висновки: після одноразового введення 10 мг/кг середня максимальна інтенсивність м'язової зміни, викликані розчином речовин LM-1158.TRIS і ліофілізованим LM-1158.TRIS (4,3 і 4,0 відповідно), дозволяє класифікувати ці речовини як ВИЗНАЧЕНИЙ РАЗДРАЗУВАЧ, тоді як речовина Orudis® досягла середнього максимального подразнення 5,0 (СИЛЬНИЙ РАЗДРАЗУВАЛЬНИК).

#### Підшкірна толерантність у кроликів. Досліджувана речовина: розчин LM-1158.TRIS

Ступінь місцевого подразнення, спричиненого досліджуваною речовиною (LM-1158.TRIS, декскетопрофен трометамол), оцінювали після підшкірного введення кролику. Тваринам одноразово вводили досліджувану речовину в правий бік, тоді як у лівий бік вводили речовину плацебо. Були створені наступні групи лікування:

	Number of animals	Dose (mg/animal)	Admin. volume (mL/animal)	Sacrificed after (time after admin.)	
Preliminary	2	25	0.3	7 days	
Study	2		0.6	7 days	
Main Study	3		0.3		24 hours
	3				3 days
	3				7 days

Доза виражається в мг діючої речовини (LM-1158). Метою попереднього дослідження було порівняння можливих відмінностей у підшкірній толерантності, які могли існувати між двома обсягами введення. Оскільки помітних відмінностей в отриманих результатах не було, об'єм введення для основного дослідження становив 0,3 мл/тварину.

Результати: Жодних змін у фізичному стані чи поведінці тварин, пов'язаних із введенням досліджуваної речовини, не спостерігалось. У деяких тварин протягом перших 24 годин після лікування спостерігалось зниження маси тіла, яке було, як правило, дуже незначним. Пізніше тварини відновили цю вагу, так що в цілому можна зробити висновок, що маса тіла кроликів залишалася практично стабільною протягом усього періоду спостереження після лікування. Жодних макроскопічних ушкоджень, пов'язаних із введенням досліджуваної речовини, не спостерігалось під час макроскопічних досліджень, проведених під час розтину трупів кроликів, забитих через 24 години та 3 дні після лікування. Серед тварин, забитих через 7 днів після введення, одна тварина, яку піддавали попередньому аналізу, мала невеликий набряк і помірну кровотечу (загальний бал: 8), тоді як один із кроликів основного аналізу мав легкий набряк (загальний бал: 2). Таким чином, загальна сума балів, отримана для п'яти оброблених тварин, становила 10. Максимальною зміною, зареєстрованою в областях, оброблених плацебо, була легка

	<p>еритема (загальна кількість балів: 2). Мікроскопічне дослідження ділянок, яким вводили досліджувану речовину, не виявило жодних змін у тварин, забитих через 24 години та 3 дні після введення. Дві тварини з попереднього аналізу та забиті через 7 днів після лікування мали запальне ураження гранулематозного характеру в підшкірній клітковині. Ця зміна характеризувалася лімфоплазмоцитарним інфільтратом і ознаками неоваскуляризації в цілому. В одному випадку також спостерігалися багатоядерні гігантські клітини. У іншій тварини спостерігався незначний мононуклеарний інфільтрат у підшкірній жировій клітковині. На ділянках, оброблених плацебо, у двох кроликів спостерігався незначний інфільтрат у підшкірній жировій клітковині лейкоцитарної мононуклеарної природи. Висновки: підшкірне введення розчину LM-1158.TRIS кролику, як описано, спровокувало макроскопічні підшкірні зміни в місцях ін'єкцій, які були дуже незначними, що дозволяє класифікувати досліджувану речовину як НЕ ПОДРАЖНИК: запальні зміни, зареєстровані в гістопатологічних дослідженнях були дуже незначними і зареєстровані у невеликої кількості тварин.</p>																																				
<p>7) додаткові дослідження токсичності:</p>																																					
<p>антигенність (утворення антитіл)</p>	<p>Жодних досліджень щодо антигенності LM-1158 (декскетопрофену) не проводилося, оскільки сполука є невеликою молекулою, позбавленою властивостей. Відповідно, результати загальних токсикологічних і фармакокінетичних досліджень виключили наявність антитіл проти LM-1158.</p>																																				
<p>імунотоксичність</p>	<p><b>Змішана реакція лімфоцитів у присутності досліджуваного препарату LM-1158.TRIS</b></p> <p>Це дослідження проводили на мишах лінії C57BL/6 і C3H/He (спленоцити). Змішана реакція лімфоцитів (MLR) виникає, коли дві популяції алогенних клітин спільно культивуються, і одна з них не піддається активації (інгібування мітоміцином C), і може бути лише джерелом стимуляції для іншої. Це явище, залежно від клітин-респондентів і, зокрема, від субпопуляцій Т-клітинного пулу, вивчали в присутності різних концентрацій досліджуваного препарату, щоб оцінити можливий його імуномодулюючий ефект.</p> <p>Результати Можливі цитотоксичні ефекти досліджуваного препарату LM-1158.TRIS у концентраціях 0,1, 0,5, 2, 4, 8, 16 і 24µg/мл, оцінювали одночасно з інкубацією концентрацій сполуки з двома популяціями лімфоцитів. Результати виражаються в <math>cpm \pm SD</math>. Значення імр./хв, отримані від клітин-респондентів, отриманих від мишей C7BL/6, підданих впливу різних концентрацій досліджуваного продукту LM-1158.TRIS (оцінка цитотоксичності), не вказують на будь-який цитотоксичний ефект на тест-систему до найвищої досліджуваної концентрації (див. таблицю нижче).</p> <table border="1" data-bbox="438 1881 1476 2072"> <thead> <tr> <th></th> <th colspan="8">Drug µg/ml concentration</th> </tr> <tr> <th></th> <th>0</th> <th>0.1</th> <th>0.5</th> <th>2</th> <th>4</th> <th>8</th> <th>16</th> <th>24</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>cpm</td> <td>1012</td> <td>1016</td> <td>886</td> <td>908</td> <td>1113</td> <td>1084</td> <td>955</td> <td>949</td> </tr> <tr> <td>±S.D.</td> <td>± 43</td> <td>±133</td> <td>±135</td> <td>±205</td> <td>± 46</td> <td>± 16</td> <td>±45</td> <td>±75</td> </tr> </tbody> </table>		Drug µg/ml concentration									0	0.1	0.5	2	4	8	16	24	cpm	1012	1016	886	908	1113	1084	955	949	±S.D.	± 43	±133	±135	±205	± 46	± 16	±45	±75
	Drug µg/ml concentration																																				
	0	0.1	0.5	2	4	8	16	24																													
cpm	1012	1016	886	908	1113	1084	955	949																													
±S.D.	± 43	±133	±135	±205	± 46	± 16	±45	±75																													

Випробувана речовина не викликала жодної статистично значущої різниці в порівнянні з негативним контролем проліферативної відповіді проти алоантигену в клітинах респондер-стимулятор (отриманих із СЗН/Не) у співвідношеннях 1:1 і 1:2. У застосовуваних експериментальних умовах досліджуваний продукт LM-1158.TRIS додавали під час встановлення культур у концентраціях 0,1, 0,5, 2, 4, 8, 16 і 24µСхоже, що г/мл не має імуномодулюючої дії на змішану лімфоцитну реакцію, в якій беруть участь макрофаги, лімфоцити та їхні лімфокіни.

#### **Проліферативна реакція «in vitro» на мітогени (Con A, LPS) Т- і В-лімфоцитів під впливом досліджуваного продукту LM-1158.TRIS**

Для вивчення можливої імуномодулюючої здатності досліджуваного препарату LM-1158.TRIS (декскетопрофен трометамол) на проліферативну відповідь Т- і В-лімфоцитів на мітогени «in vitro» спленоцити, отримані від мишей BALB/c, піддавали впливу на початку культури, як до різних концентрацій досліджуваного препарату, так і/або до активаторів.

Результати: можливі цитотоксичні ефекти досліджуваного препарату LM-1158. TRIS, в концентраціях 0,1, 0,5, 2, 4, 8, 16 і 24µг/мл. Результати виражали як  $\text{срн} \pm \text{SD}$ . Значення імп./хв, отримані з культур спленоцитів миші BALB/c, підданих досліджуваному продукту в різних концентраціях (цитотоксична оцінка), вказують на відсутність будь-якого цитотоксичного ефекту LM-1158.TRIS на тест-систему до найвищої концентрації (див. таблицю нижче). ):

	Drug µg/ml concentration							
	0	0.1	0.5	2	4	8	16	24
срн	496	450	516	422	520	615	517	426
±S.D.	±52	±50	±73	±160	± 18	±118	±44	±20

Насправді не спостерігалось жодної статистично відмінної інкорпорації ЗН-TdR, вираженої як значення імп./хв, при будь-якій концентрації досліджуваного продукту порівняно з культурою негативного контролю. На основі цих результатів усі аналізовані концентрації досліджуваного продукту вважалися придатними та аналізували їхній вплив на проліферативну відповідь. У таблицях нижче наведено результати проліферативної відповіді лімфоцитів селезінки на мітогени Т- та В-клітин, Конканавалін А та Ліпополісахарид, відповідно.

		Drug $\mu\text{g/ml}$ concentrations							
		0	0.1	0.5	2	4	8	16	24
Con A	1 $\mu\text{g/ml}$	13314 $\pm 2314$	17089 $\pm 1620$	12686 $\pm 1724$	14330 $\pm 2528$	15886 $\pm 1616$	13272 $\pm 2232$	13522 $\pm 1216$	15649 $\pm 1938$
Con A	3 $\mu\text{g/ml}$	25220 $\pm 188$	24711 $\pm 1957$	25865 $\pm 1615$	24952 $\pm 1322$	24897 $\pm 1239$	25225 $\pm 1008$	25141 $\pm 2387$	23316 $\pm 3903$
Con A	12 $\mu\text{g/ml}$	21814 $\pm 284$	21663 $\pm 659$	20670 $\pm 317$	20516 $\pm 1359$	21819 $\pm 798$	21785 $\pm 2211$	20510 $\pm 1185$	20924 $\pm 827$
		Drug $\mu\text{g/ml}$ concentrations							
		0	0.1	0.5	2	4	8	16	24
LPS	10 $\mu\text{g/ml}$	9052 $\pm 744$	8962 $\pm 667$	8661 $\pm 1048$	9274 $\pm 1244$	8873 $\pm 2628$	8739 $\pm 263$	8132 $\pm 1071$	8875 $\pm 1268$
LPS	360 $\mu\text{g/ml}$	12415 $\pm 1587$	13689 $\pm 208$	12943 $\pm 1068$	11740 $\pm 753$	11566 $\pm 321$	12004 $\pm 923$	13593 $\pm 1236$	13589 $\pm 1619$
LPS	1080 $\mu\text{g/ml}$	11046 $\pm 691$	10731 $\pm 1108$	11578 $\pm 957$	11710 $\pm 181$	11446 $\pm 1033$	12512 $\pm 742$	11845 $\pm 1921$	11002 $\pm 362$

Жодних статистично значущих відмінностей у введенні 3H-TdR не спостерігалось при будь-якій концентрації LM-1158.TRIS, коли ліпополісахарид або конканавалін А використовували як поліклональні активатори. Виходячи з цих даних, мітогенна відповідь спленоцитів на різні концентрації Con A або LPS не була змінена будь-якою концентрацією досліджуваного продукту в досліджуваному діапазоні порівняно з культурою негативного контролю (спленоцити плюс мітоген): Таким чином, LM-1158.TRIS не виявив жодної імуномодулюючої активності в межах чутливості цього тесту.

**Тест гемаглютинації для визначення відповіді антитіл на еритроцити овець у мишей, які отримували досліджуваний продукт LM-1158.TRIS**

Мишей BALB/c отримували LM-1158.TRIS (декскетопрофен трометамол) протягом 12 днів поспіль (від дня 0 до дня +11) і імунізували внутрішньовенно приблизно  $2 \times 10^8$  еритроцитів барана (SRBC) (день 0). На день +6 тварини отримували внутрішньовенну підживлюючу ін'єкцію SRBC ( $2 \times 10^8$ ). На день +12 тварин умертвляли, кров збирали та центрифугували для отримання сироватки. Відповідь антитіл на SRBC оцінювали *in vitro* за допомогою реакції гемаглютинації.

Результати: Результати тесту гемаглютинації, проведеного на сироватках, зібраних у мишей різних експериментальних груп, представлені в таблиці

нижче:				
Exp. Group no.	1	2	3	4
Treatment mg/kg/day	water for injection	5	15	50
	320	320	320	160
	320	320	320	320
	320	320	320	320
	320	320	320	640
	640	320	320	640
	640	320	640	320
	640	320	320	320
	320	640	320	640
Median	320	320	320	320
Min.	320	320	320	160
Max.	640	640	640	640

В дослідних групах (групи № 2, 3, 4) титр антитіл до СРБК, виражений як величина, зворотна найбільшому позитивному розведенню, статистично не відрізнявся від титру антитіл у негативному контролі. За застосованих експериментальних умов досліджуваній препарат LM-1158.TRIS, який перорально вводили мишам BALB/c протягом 12 днів поспіль у дозах 5, 15 та 50 мг/кг/день, не міг змінити імунологічну відповідь (у які залучені макрофаги, Т- і не-Т-лімфоцити) проти антигену SRBC, тому досліджуваній препарат не має імуномодулюючої здатності.

**Гіперчутливість уповільненого типу до еритроцитів барана у мишей, які отримували досліджувану статтю LM-1158.TRIS**

Здатність досліджуваного препарату LM-1158.TRIS (декскетопрофен трометамол) модулювати Т-клітинно-залежну реакцію *in vivo*, що характеризується уповільненою запальною відповіддю в місці антигенного зараження, оцінювали на мишах (C57BL/6), імунізованих еритроцитами барана (SRBC) і введених перорально протягом 12 днів поспіль у дозах 5, 15 і 50 мг/кг/день. Мишей імунізували внутрішньовенно приблизно 10<sup>5</sup> SRBC (день +7). На день +11 мишей заражали шляхом ін'єкції 50μL підвіски SRBC (приблизно 10<sup>8</sup> SRBC/мишу) у правій задній лапці. Через двадцять чотири години тварин умертвляли, а відстрочену гіперчутливість (ДГТ) оцінювали шляхом вимірювання набряку подушечки стопи.

Результати: у наведеній нижче таблиці наведено результати гіперчутливості сповільненого типу (ДГТ) у мишей, які отримували перорально протягом 12 днів поспіль досліджуваній продукт LM-1158.TRIS у дозах 5, 15 і 50 мг/кг/день.

Exp. Group no.	1	2	3	4
Treatment mg/kg/day	water for injection	5	15	50
Footpad swelling	11.5	13.5	11.5	9.0
	12.1	10.8	11.7	10.6
	7.4	8.8	11.6	10.0
	10.6	12.7	10.3	9.6
	12.2	9.4	12.2	7.8
	6.8	9.4	11.8	12.5
	9.7	10.5	12.5	10.5
	10.5	10.9	9.5	9.2
Mean $\pm$ SD	10.1 $\pm$ 2.0	10.8 $\pm$ 1.6	11.4 $\pm$ 1.0	9.9 $\pm$ 1.4
<p>В експериментальних групах (№№ 2, 3 і 4) реакція ДГТ, виражена як набряк подушечки стопи 0,1 мм.<math>\pm</math>SD, статистично не відрізнявся від реакції, отриманої в негативному контролі. За застосованих експериментальних умов було виявлено, що досліджувана речовина LM-1158.TRIS, яку вводили перорально протягом 12 днів поспіль імунізованим SRBC мишам, не здатна впливати на клітинну відповідь імунологічної функції.</p> <p><b>Реакція «трансплантат проти хазяїна» з використанням як донорів мишей, які отримували досліджуваний продукт LM-1158.TRIS</b></p> <p>Щоб вивчити можливий імуномодулюючий потенціал досліджуваного препарату LM-1158.TRIS (декскетопрофен трометамол) на реакцію «трансплантат проти хазяїна» (GVH), мишей-донорів (C57BL/6) лікували протягом 5 днів (з дня від 0 до +4) з досліджуваним препаратом при пероральному введенні в об'ємі 10 мл/кг. На день +5 мишей-донорів умертвляли, і суспензію спленоцитів кожної тварини вводили внутрішньовенно одній миші-реципієнту (BDF1). Реакцію трансплантат проти хазяїна оцінювали як індекс селезінки у мишей BDF1 через 9 днів.</p> <p>Результати: Результати реакції GVH представлені в таблиці нижче:</p>				
Exp. Group	1	2	3	4
Treatment mg/kg/day	water for injection	5	15	50
Splenic index	3.28	4.04	4.04	3.18
	3.91	4.24	4.04	3.94
	4.17	4.02	3.08	4.04
	3.69	3.31	3.33	4.09
	3.99	3.51	4.09	3.74
	3.33	4.24	3.46	3.51
	Mean $\pm$ S.D.	3.73 $\pm$ 0.36	3.89 $\pm$ 0.39	3.67 $\pm$ 0.44
<p>Значення селезінкового індексу, отримані у тварин, які отримували LM-1158.TRIS (групи № 2, 3, 4), статистично не відрізнялися від значень,</p>				

	zareestrowanih u tvarin negativnogo kontrolyu (grupa № 1). Takim chinom, doslidzhuwana rечovina, яку вводили перорально протягом п'яти послідовних днів у дозах 5, 15 і 50 мг/кг/день, не виявила жодної імуномодулюючої активності в межах чутливості цього тесту.																																										
дослідження механізмів дії	Жоден результат доклінічних досліджень (фармакологічних, фармакокінетичних або токсикологічних досліджень) не висвітлює особливих токсичних ефектів, які слід додатково досліджувати за допомогою механічних досліджень																																										
лікарська залежність	Жоден результат доклінічних досліджень (досліджень фармакології, фармакокінетики чи токсикології) не вказує на те, що декскетопрофен може викликати залежність																																										
токсичність метаболітів																																											
токсичність домішок	<p><b>Тест на гостру оральну токсичність. Визначення LD50 у мишей. Досліджувана речовина: LM-1401</b></p> <p>LM-1401 (N-(Tris(hydroxymethyl)methyl)-(S)-a-(3-benzoylphenyl)propionamide) є продуктом розпаду протизапальної речовини LM-1158. Гостру токсичність цієї речовини визначали на мишах CD-1 пероральним шляхом. Значення LD50 для самців і самок, разом і окремо, через 14 днів після введення виявилося вищим за 500 мг/кг (див. таблицю нижче).</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Dose (mg/kg)</th> <th colspan="3">Males</th> <th colspan="3">Females</th> </tr> <tr> <th>No. of animals</th> <th>Animals died</th> <th>% Mortal.</th> <th>No. of animals</th> <th>Animals died</th> <th>% Mortal.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>500</td> <td>5</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>5</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>1000</td> <td>5</td> <td>3</td> <td>60</td> <td>5</td> <td>2</td> <td>40</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Dose (mg/kg)</th> <th colspan="3">Males and females</th> </tr> <tr> <th>No of animals</th> <th>Animals died</th> <th>% Mortality</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>500</td> <td>10</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>1000</td> <td>10</td> <td>5</td> <td>50</td> </tr> </tbody> </table> <p>Смертність, зареєстрована при різних рівнях дозування, сталася протягом перших 4 днів після лікування. Основними клінічними ознаками, які спостерігалися під час дослідження, були: зниження рухової активності, атаксія, пальпебральний птоз, згорбленість спини та пілоерекція. Під час проведених розтинів було виявлено численні спайки в черевній порожнині двох самок, які отримували 500 мг/кг LM-1401. Ці тварини були забиті в кінці періоду спостереження. Крім того, білуваті плями були відзначені на поверхні печінки одного самця, убитого в кінці періоду спостереження. Решта тварин не показали жодних помітних макроскопічних змін, пов'язаних з лікуванням, під час розтину.</p> <p><b>Тест на гостру оральну токсичність. Визначення LD50 у мишей. Досліджувана речовина: LM-1424</b></p> <p>LM-1424 (1-[(S)-a-(3-Benzoylphenyl)propanoyloksi]-2-((S)-a-(3-benzoylphenyl)propionamido]-3-gidroxy-2-gidroxymerhylpropane) є продуктом розпаду протизапальну речовину LM-1158. Визначали гостру</p>	Dose (mg/kg)	Males			Females			No. of animals	Animals died	% Mortal.	No. of animals	Animals died	% Mortal.	500	5	0	0	5	0	0	1000	5	3	60	5	2	40	Dose (mg/kg)	Males and females			No of animals	Animals died	% Mortality	500	10	0	0	1000	10	5	50
Dose (mg/kg)	Males			Females																																							
	No. of animals	Animals died	% Mortal.	No. of animals	Animals died	% Mortal.																																					
500	5	0	0	5	0	0																																					
1000	5	3	60	5	2	40																																					
Dose (mg/kg)	Males and females																																										
	No of animals	Animals died	% Mortality																																								
500	10	0	0																																								
1000	10	5	50																																								

токсичність речовини LM-1424 при пероральному введенні. виявився вищим за 500 мг/кг (див. таблицю нижче).

Dose (mg/kg)	Males			Females		
	No. of animals	Animals died	% Mortal.	No. of animals	Animals died	% Mortal.
125	5	0	0	-	-	-
250	5	1	20	5	0	0
500	10	2	20	10	0	0
1000	5	3	60	5	0	0

Dose (mg/kg)	Males and females		
	No of animals	Animals died	% Mortality
125	5	0	0
250	10	1	10
500	20	2	10
1000	10	3	30

Смертність, зареєстрована при різних рівнях дозування, сталася протягом перших 4 днів після лікування. Основними клінічними ознаками, які спостерігалися під час дослідження, були: зниження рухової активності, атаксія, пальпебральний птоз, згорбленість спини та пілоерекція. Під час проведених розтинів було виявлено численні фіброзні спайки в черевній порожнині однієї самки, якій вводили дозу 250 мг/кг LM-1424, іншої самки в дозі 500 мг/кг, а також одного самця та однієї самки. у дозі 1000 мг/кг. Крім того, в одного самця, якому вводили дозу 500 мг/кг, було помічено дещо збільшення лівої нирки. Ці тварини були забиті в кінці періоду спостереження. В одного самця, якому вводили дозу 500 мг/кг, який загинув протягом періоду спостереження, на слизовій оболонці шлунка з'явилися плямисті ділянки (петехії). Решта тварин не показали жодних помітних макроскопічних змін, пов'язаних з лікуванням, під час розтину.

**Продукт деградації В декскетопрофену (LM-1673). Дослідження гострої пероральної токсичності на мишах (метод класу гострої токсичності)**

Гостру токсичність продукту розпаду В декскетопрофену (LM-1673, (S)-(2-аміно-3-гідрокси-2-гідроксиметилпропіл)-альфа-(3-бензоілфеніл) пропіонат) досліджували після одноразового перорального введення Миші CD 1 з подальшим 14-денним періодом спостереження в порівнянні з декскетопрофеном триметаміном. Дві групи, кожна з 3 самок тварин, спочатку отримували дозу 2000 мг/кг (етап 1) досліджуваного або контрольного продукту. Одну тварину, якій ввели досліджувану речовину, було знайдено мертвою на 5-й день дослідження. Не було зареєстровано жодних клінічних ознак у тварини перед смертю та у тих, хто вижив, які отримували досліджуваний продукт до запланованого умертвіння. Усі тварини, які отримували еталонну речовину, були знайдені мертвими протягом періоду спостереження, тварина № 7 на 5 день, тварина № 11 на 7 день і тварина № 9 на 8 день навчання. На 5-й день дослідження було зареєстровано зниження активності для всіх тварин, які отримували еталонну речовину. Крім того, в однієї тварини (№ 7) спостерігалася атаксія. Крім того, у тварин, що вижили, аж до їхньої смерті (6 і 7 дні дослідження) реєстрували зниження активності та атаксію. Дві інші групи, подібного складу, потім отримували досліджувану речовину в тому ж рівні дози або контрольну речовину в

300 мг/кг (етап 2). Смертельних випадків не було, клінічних ознак не було. Наступній групі з 3 самок тварин вводили контрольну речовину в дозі 300 мг/кг (етап 3). Смертності не спостерігалось та клінічних ознак не спостерігалось. Зміни маси тіла, зареєстровані під час дослідження, були в межах очікуваного діапазону для цієї лінії та віку тварин. Жодних аномалій не спостерігалось під час розтину тварин, які рано померли, та інших тварин наприкінці періоду спостереження, за винятком однієї тварини, якій вводили досліджувану речовину в дозі 2000 мг/кг (№ 15), група 3, яка показала помірний випадання волосся в надлопатковій області. Ці результати вказують на те, що продукт розпаду досліджуваного об'єкта В декскетопрофену (LM-1673) не викликав токсичних ефектів у миші після перорального введення одноразової дози на рівні 2000 мг/кг. Таким чином, максимальна переносима доза вважається вищою за 2000 мг/кг маси тіла, тоді як контрольний декскетопрофен трометамін не викликав смертності та/або ознак токсичності у мишей після перорального введення разової дози 300 мг/кг. Таким чином, максимально переносима доза вважається нижчою за 2000 мг/кг маси тіла, але вищою за 300 мг/кг маси тіла.

**Звіт консультації з токсикології In silico. Токсикологічний аналіз однієї структури за допомогою Derek Nexus і Leadscope**

Токсикологічний аналіз на канцерогенність, пошкодження хромосом, генотоксичність і мутагенність проводився на продукті розпаду декскетопрофену Домішка А (або LM-1424, або 1-[(S)-альфа-(3-бензоілфеніл)пропаноїлокси]-2-((S)-альфа-(3-бензоілфеніл)пропіонамідо)-3-гідрокси-2-гідроксиметилпропан)) за допомогою Derek Nexus і Leadscope. Derek Nexus — це «експертна» система, яка призначає якісні прогнози. Leadscope — це система статистичного моделювання кількісного (Q)SAR.

Загалом сукупна маса доказів in silico вказує на те, що декскетопрофенова домішка А не повинна розглядатися як бактеріальний мутаген і як така повинна бути класифікована як клас 5 відповідно до ICH M7.


Крім того, докази in silico у поєднанні з емпіричними доказами щодо структурно спорідненої сполуки вказують на те, що цю структуру не слід вважати канцерогеном, що має відношення до людини. Жодних сповіщень щодо канцерогенності, пошкодження хромосом, генотоксичності чи мутагенності Дерек Нексуса не було викликано. Вагомість доказів із набору генетичної токсичності Leadscope вказує на те, що ця структура навряд чи є кластогеном in vivo або in vitro. Три хибнопозитивні результати були викликані та відхилені як нерелевантні, оскільки навчальні набори основних позитивних сприяючих функцій містили фрагменти, яких немає в цій структурі. Крім того, вагомість доказів із порівнянних кінцевих точок (in vitro та in vivo) вказує на те, що ця структура, ймовірно, буде негативною у більшості аналізів генетичної токсичності in vitro та in vivo.

**Звіт консультації з токсикології In silico. Токсикологічний аналіз однієї структури за допомогою Derek Nexus і Leadscope (2)**

Токсикологічний аналіз на канцерогенність, пошкодження хромосом, генотоксичність і мутагенність проводився на продукті розпаду декскетопрофену Домішка В (або LM-1673, або (S)-(2-аміно-3-гідрокси-2-гідроксиметилпропіл)-альфа-(3-бензоілфеніл)пропіонат) за допомогою Derek Nexus і Leadscope. Derek Nexus — це «експертна» система, яка призначає якісні прогнози. Leadscope — система статистичного моделювання кількісного (Q)SAR.

	<p>Загалом сукупна маса доказів <i>in silico</i> вказує на те, що декскетопрофенова домішка В не повинна розглядатися як бактеріальний мутаген і як така повинна бути класифікована як клас 5 відповідно до ICH M7.</p> <p>Крім того, докази <i>in silico</i> у поєднанні з емпіричними доказами щодо структурно спорідненої сполуки вказують на те, що ця структура не слід вважати канцерогеном, що має відношення до людини. Жодних сповіщень щодо канцерогенності, пошкодження хромосом, генотоксичності чи мутагенності Дерека Нексуса не було викликано. Вагомість доказів із набору генетичної токсичності Leadscore вказує на те, що ця структура навряд чи є кластогеном <i>in vivo</i> або <i>in vitro</i>. Хибнопозитивний результат був викликаний і відхилений як нерелевантний, оскільки навчальні набори основних позитивних сприяючих функцій містили фрагменти, яких немає в цій структурі. Крім того, вагомість доказів із порівнянних кінцевих точок (<i>in vitro</i> та <i>in vivo</i>) вказує на те, що ця структура, ймовірно, буде негативною у більшості аналізів генетичної токсичності <i>in vitro</i> та <i>in vivo</i>.</p>
інше	<p><b>Оцінка фототоксичності кетопрофену (R, S та R/S) за допомогою ряду аналізів <i>in vitro</i></b></p> <p>Різні енантіомери кетопрофену (S і R) і його рацемічної форми (R/S) показали порівнянну фототоксичність при дослідженні наступними тестовими системами <i>in vitro</i>; (a) вплив попередньо опромінених препаратів на культивовані гепатоцити; (b) спільне опромінення ліків гепатоцитами або фібробластами, (c) фотогемоліз, сенсibiliзований різними стереоізомерами кетопрофену; (d) фотосенсибилізоване лікарським засобом утворення гідропероксидів лінолевої кислоти. Інгибування фотогемолізу та фотодинамічного перекисного окислення ліпідів бутильованим гідроксианізолом і відновленим глутатіоном свідчить про те, що фототоксичність кетопрофену пов'язана з радикальним ланцюгом (тип 1) перекисного окислення мембранних ліпідів, що призводить до лізису клітин. З огляду на наведені вище результати може бути вигідно використовувати фармакологічно активний S (+) енантіомер замість форми R/S, оскільки необхідні менші дози призведуть до зменшення фототоксичного потенціалу.</p>
5. Висновки щодо доклінічного вивчення	Будь ласка, зверніться до висновків та результатів, наведених вище для кожного розділу.

Заявник (власник  
реєстраційного  
посвідчення)

  
(підпис)  
Дамаскіна А. В.  
(П. І. Б.)

{Порядок доповнено новим Додатком 29 згідно з Наказом Міністерства охорони здоров'я № 1528 від 27.06.2019}

Додаток 30  
до Порядку проведення експертизи  
реєстраційних матеріалів на лікарські  
засоби, що подаються на державну  
реєстрацію (перереєстрацію), а також  
експертизи матеріалів про внесення  
змін до реєстраційних матеріалів  
протягом дії реєстраційного  
посвідчення  
(пункт 4 розділу IV)

**Звіт про клінічне випробування 1**

1. Назва лікарського засобу (за наявності - номер реєстраційного посвідчення)	Дексалгін® розчин оральний
2. Заявник	Менаріні Інтернешнал Оперейшнс Люксембург С.А. Авеню де ла Гар 1, L-1611 Люксембург, Люксембург
3. Виробник	<i>Виробництво "in bulk", первинне та вторинне пакування:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>• КЕРН ФАРМА, С.Л. Калле Венус, 72 08228 Терраса (Барселона), Іспанія</li> <li>• Лабораторіос Алкала Фарма, С.Л. Авеніда де Мадрид, 82, Алкала де Енарес, Мадрид, 28802, Іспанія</li> </ul> <i>Контроль та випуск серій:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ЛАБОРАТОРИОС МЕНАРИНИ С.А. Альфонс XII, 587, Бадалона, Барселона, 08918, Іспанія</li> </ul>
4. Проведені дослідження:	<b>Х</b> так    ні    якщо ні, обґрунтувати
1) тип лікарського засобу, за яким проводилася або планується реєстрація	х ЗМІНИ, ЦО ПОТРЕБУЮТЬ НОВОЇ РЕЄСТРАЦІЇ х Зміни сили дії, лікарської форми та способу застосування х зміна або додавання нової лікарської форми
5. Повна назва клінічного випробування, кодований номер клінічного випробування	Порівняльне дослідження біодоступності дексетопрофену трометамолу після прийому однієї дози препарату Енантіум®, розчин оральний, 25 мг, та таблеток Керал® здоровими учасниками.  DKP-BE-SOL 2014-000371-10
6. Фаза клінічного випробування	Фаза 1 (Біоеквівалентність)
7. Період проведення клінічного випробування	з 10 квітня 2014 по 04 червня 2014
8. Країни, де проводилося клінічне випробування	Великобританія
9. Кількість досліджуваних	запланована: 26 (чоловіків та жінок) фактична: 25 (чоловіків та жінок)
10. Мета та вторинні цілі клінічного випробування	Первинна: порівняння біодоступності 25 мг DKP.TRIS в формі препарату Енантіум®, розчин оральний (досліджуваний препарат), та таблеток Керал® (препарат порівняння).
11. Дизайн клінічного випробування	Відкрите, рандомізоване, в 2 періоди, з двома послідовностями, з прийомом однією дозою, перехресне дослідження. Дослідження складалось з візиту до початку участі в

	дослідженні (за 21 день до прийому першої дози), двох подальших візитів для ФК оцінки (1 та 2) та візиту після завершення участі в дослідженні (через 7 – 10 днів після прийому останньої дози). Тривалість кожного з візитів для ФК оцінки становила 2,5 дні.			
12. Основні критерії включення	Здорові чоловіки та жінки віком 18 – 50 років, без алергічної ідіосинкразії або чутливості до ДКР.ТРИС чи інших НСПЗП в анамнезі, які, якщо не були стерилізовані в хірургічний спосіб, уникатимуть статевих контактів, або не здатні до народження дитини, або погодяться застосовувати ефективний метод контрацепції з Дні 1 та три подальші місяці.			
13. Досліджуваний лікарський засіб, спосіб застосування, сила дії	Енантім® (декскеторофену трометамол), розчин оральний, 25 мг (10 мл в саше)			
14. Препарат порівняння, доза, спосіб застосування, сила дії	Керал® (декскеторофену трометамол), в таблетках (одна таблетка).			
15. Супутня терапія	Відсутня			
16. Критерії оцінки ефективності	Первинні ФК характеристики: $C_{max}$ та $AUC_{(0-t)}$			
	Вторинні ФК характеристики: $AUC_{(0-inf)}$ , $t_{max}$ , $C_{last}$ , $t_{last}$ та $k_e$ .			
17. Критерії оцінки безпеки	Побічні явища, головні показники життєдіяльності організму, ЕКГ за 12 відведеннями та лабораторні показники (клінічний та біохімічний аналіз крові та аналіз сечі).			
18. Статистичні методи	Логарифмічно трансформовані значення $C_{max}$ та $AUC_{(0-t)}$ були проаналізовані методом аналізу варіацій (ANOVA) з урахуванням послідовності, періоду, препарату та учасників в кожній з послідовностей в якості фіксованих ефектів. Точкові оцінки та 90% довірчі інтервали були розраховані за залишковою середньоквадратичною похибкою, за результатами аналізу ANOVA. Для кожної з груп були розраховані також і геометричні середні значення. Для демонстрації відсутності різниці швидкості та об'єму абсорбції значення 90% співвідношення ДІ геометричних середніх значень, розрахованих методом найменших квадратів, повинно було становити 80,00% - 133,00% для показників $C_{max}$ та 80,00% - 125,00% для $AUC_{(0-t)}$ .			
19. Демографічні показники досліджуваної популяції (стать, вік, раса, тощо)	Демографічні та антропометричні показники підсумовані в таблиці нижче:			
	Параметр	Статистичний показник	Чоловіки (N = 14)	Жінки (N = 12)
Вік (років)	Середнє	28,1	29,8	28,9
	СВ	6,40	6,55	6,39
Зріст (м)	Середнє	1,77	1,64	1,71
	СВ	0,06	0,05	0,09
Маса тіла (кг)	Середнє	79,49	62,04	71,44
	СВ	7,80	6,62	11,38
ІМТ (кг/м <sup>2</sup> )	Середнє	25,30	23,08	24,28
	СВ	2,09	2,39	2,46
Расова приналежність:	N (%)	14 (100,0)	12 (100,0)	26 (100,0)
европеїдна				
Джерело даних: таблиця 14.1.2				

20. Результати ефективності

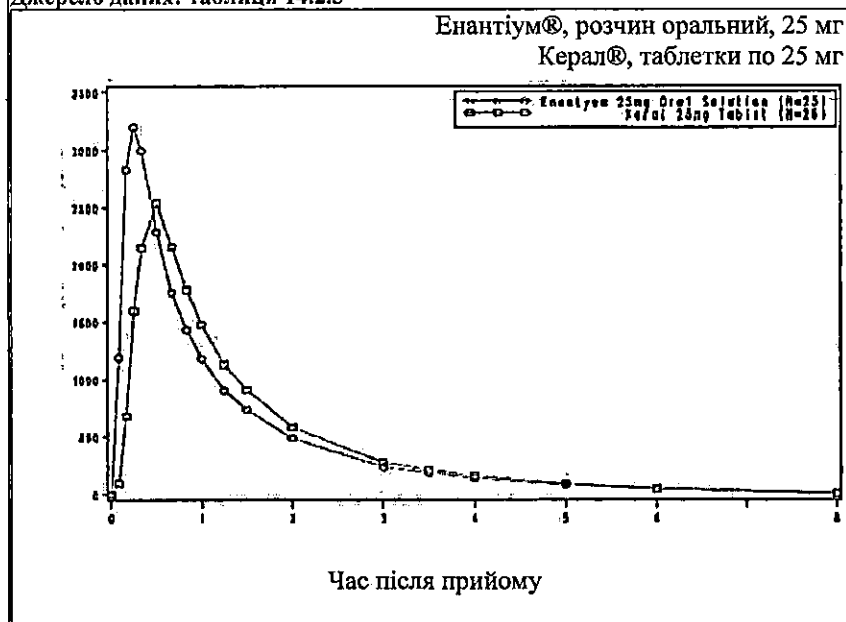
ФК аналіз даних був проведений за даними ФК популяції, до якої належали усі 26 учасників. Була підтверджена біоеквівалентність препарату Енантіум®, розчин оральний, 25 мг, та таблеток Керал®, 25 мг, з 90% СІ геометричного LScереднє співвідношення Тест/Референс для AUC і C<sub>max</sub>, що потрапляє в допустимий діапазон.

ФК параметр	Геометричні середні значення, розраховані методом найменших квадратів		Співвідношення (досліджуваній ЛП / ЛП порівняння Геометричні середні значення, розраховані методом найменших квадратів (%)) та 90% ДІ*
	Досліджуваний ЛП Енантіум®, розчин для оральний, 25 мг (N = 25)	ЛП порівняння: Керал®, таблетки по 25 мг (N = 26)	
C <sub>max</sub> (нг/мл)	3311,17	2785,95	118,85 (110,49 – 127,85)
AUC <sub>(0-t)</sub> (год * нг/мл)	3369,98	3371,97	99,94 (97,92 – 102,01)
AUC <sub>(0-inf)</sub> (год * нг/мл)	3481,31	3485,57	99,88 (97,84 – 101,95)

Результати, отримані в аналізі ANOVA з урахуванням періоду, послідовності, препарату та учасників в кожній з послідовностей в якості фіксованих ефектів.

Досліджуваний ЛП – досліджуваний лікарський препарат; ДІ – довірчий інтервал

Джерело даних: таблиця 14.2.3

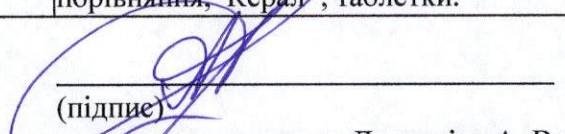


21. Результати безпеки

В цілому, були отримані повідомлення про 13 побічних явищ від вісьмох учасників в період участі в дослідження, про одне – до прийому препарату та ще сім учасників повідомили про 12 побічних явищ після прийому. З усіх повідомлених побічних явищ після прийому препарату більшість була низького ступеня тяжкості, причинно-наслідковий зв'язок явищ з досліджуваним лікарським препаратом є малоймовірним. Найчастішим побічними явищами після прийому був головний біль, хоча про нього повідомили лише два учасники, один після прийому препарату Енантіум®, розчин оральний, 25 мг, і ще один після прийому препарату Керал®, таблетки по 25 мг. Клінічно значущі зміни вмісту печінкових ферментів (AST та ALT), а також вмісту FERR у сироватці крові були виявлені у учасників 002 та 024, відповідно, явища були класифіковані, як побічні явища

	<p>після прийому препарату. Значення поза діапазоном норми не були класифіковані, як клінічно значущі. Про клінічно значущу гематурія учасника 014 також було повідомлено, як про побічні явища. Менше з тим, явище виникло до прийому препарату, отже, не мало причинно-наслідкового зв'язку з препаратами дослідження. За винятком підвищення вмісту AST та ALT (учасник 002), зниження вмісту FERR у сироватці крові (учасник 24) та гематурії (учасник 14), інші клінічно значущі результати біохімічного аналізу крові та аналізу сечі в дослідженні виявлені не були. Так саме, клінічно значущі відхилення результатів клінічного аналізу крові, головних показників життєдіяльності організму та ЕКГ за 12 відведеннями в дослідженні виявлені не були.</p>
<p>22. Висновок (заклучення)</p>	<p>Енантіум®, розчин оральний, класифікований, як біоеквівалентний препарату порівняння, Керал®, таблетки, при прийомі дозою 25 мг. Енантіум®, розчин оральний, класифікований, як безпечний та добре переносимий, з профілем побічних явищ подібним до такого препарату порівняння, Керал®, таблетки.</p>

Заявник (власник реєстраційного посвідчення)

  
 \_\_\_\_\_  
 (підпис)  
 представник заявника Дамаскіна А. В.  
 (П. І. Б.)

{Порядок доповнено новим Додатком 30 згідно з Наказом Міністерства охорони здоров'я № 1528 від 27.06.2019}

Додаток 30  
до Порядку проведення експертизи  
реєстраційних матеріалів на лікарські  
засоби, що подаються на державну  
реєстрацію (перереєстрацію), а також  
експертизи матеріалів про внесення  
змін до реєстраційних матеріалів  
протягом дії реєстраційного  
посвідчення  
(пункт 4 розділу IV)

### Звіт про клінічне випробування 2

1. Назва лікарського засобу (за наявності - номер реєстраційного посвідчення)	Дексалгін® розчин оральний
2. Заявник	Менаріні Інтернешнал Оперейшнс Люксембург С.А. Авеню де ла Гар 1, L-1611 Люксембург, Люксембург
3. Виробник	<i>Виробництво "in bulk", первинне та вторинне пакування:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>• КЕРН ФАРМА, С.Л. Калле Венус, 72 08228 Терраса (Барселона), Іспанія</li> <li>• Лабораторіос Алкала Фарма, С.Л. Авеніда де Мадрид, 82, Алкала де Енарес, Мадрид, 28802, Іспанія <i>Контроль та випуск серій:</i></li> <li>• ЛАБОРАТОРИОС МЕНАРИНИ С.А. Альфонс XII, 587, Бадалона, Барселона, 08918, Іспанія</li> </ul>
4. Проведені дослідження:	<b>Х</b> так    ні    якщо ні, обґрунтувати
1) тип лікарського засобу, за яким проводилася або планується реєстрація	x ЗМІНИ, ЩО ПОТРЕБУЮТЬ НОВОЇ РЕЄСТРАЦІЇ x Зміни сили дії, лікарської форми та способу застосування x зміна або додавання нової лікарської форми
5. Повна назва клінічного випробування, кодовий номер клінічного випробування	Порівняльне дослідження біодоступності декскетопрофену трометамолу після прийому однієї дози розчину орального, 25 мг, не запиваючи водою, та таблеток, вкритих плівковою оболонкою, здоровими учасниками. DKP-BE-SOL-02 2019-000734-19
6. Фаза клінічного випробування	Фаза I (Біоеквівалентність)
7. Період проведення клінічного випробування	з 15 липня 2019 по 04 вересня 2019
8. Країни, де проводилося клінічне випробування	Іспанія
9. Кількість досліджуваних	запланована: 30 (чоловіків та жінок) фактична: 30 (15 чоловіків та 15 жінок)
10. Мета та вторинні цілі клінічного випробування	Первинна: порівняння біодоступності DKP.TRIS у формі розчину орального, дозою 25 мг, при прийомі без запивання водою (досліджуваний препарат), та DKP.TRIS у формі таблеток, дозою 25 мг, вкритих плівковою оболонкою (препарат порівняння).

	Вторинна: оцінка безпеки та переносимості DKP.TRIS при одноразовому прийомі дозою 25 мг.
11. Дизайн клінічного випробування	<p>Відкрите, рандомізоване, в 2 періоди, з двома послідовностями перехресне дослідження. Дослідження складалось з візиту до початку участі в дослідженні (здійсненого в період трьох тижнів день до першого періоду для ФК оцінки), двох подальших візитів для фармакокінетичної оцінки, розподілених щонайменше триденним інтервалом, для виведення раніше отриманого препарату та візиту після завершення участі в дослідженні (через 7 – 10 днів після прийому останньої дози).</p> <p>The diagram illustrates the trial timeline. It starts with a 'Screening Visit' box. Below it, a horizontal timeline is marked with 'Subject's Eligibility'. Key events are: '1<sup>st</sup> PK session 24h' (with a '≥3 days wash-out' period before the next session), '2<sup>nd</sup> PK session 24h' (with a '7-10 days' interval from the first session), and 'End of study visit' (with a 'Final safety assessment' label below it). Above the timeline, two boxes describe the treatment: 'DKP 25 mg Oral solution without water or DKP 25 mg film-coated tablet with water Single Dose'.</p>
12. Основні критерії включення	Здорові учасники (чоловіки та жінки) віком 18 – 50 років, з індексом маси тіла (ІМТ) 18,5 – 30 кг/м <sup>2</sup> .
13. Досліджуваний лікарський засіб, спосіб застосування, сила дії	Декскеторофену трометамол (DKP.TRIS), 25 мг, в формі розчину орального, без запивання водою.
14. Препарат порівняння, доза, спосіб застосування, сила дії	Декскеторофену трометамол (DKP.TRIS), 25 мг, в формі таблеток, вкритих плівковою оболонкою, прийом із запиванням водою.
15. Супутня терапія	Відсутня
16. Критерії оцінки ефективності	<p>Фармакокінетичні: <u>первинні ФК характеристики:</u>  <math>AUC_{(0-t)}</math> та <math>C_{max}</math></p> <p><u>Вторинні ФК характеристики:</u> <math>AUC_{(0-inf)}</math>, <math>t_{max}</math>, <math>t_{1/2}</math></p>
17. Критерії оцінки безпеки	До аналізу безпеки були включені дані щодо побічних явищ, побічні явища після прийому препарату, побічні явища на лікарський засіб, результатів лабораторних аналізів, лікарських обстежень, головних показників життєдіяльності організму та ЕКГ за 12 відведеннями.
18. Статистичні методи	Натуральні логарифмічно трансформовані значення $C_{max}$ та $AUC_{(0-t)}$ були проаналізовані з використанням моделі змішаних ефектів, з урахуванням послідовності, періоду, препарату та учасників в кожній з послідовностей в якості фіксованих ефектів. Із застосуванням цієї моделі були розраховані оцінки середньої різниці (результатів при прийомі досліджуваного препарату та препарату порівняння) та відповідні 90% довірчі інтервали (ДІ). Відсутність різниці швидкості та об'єму абсорбції DKP при прийомі досліджуваного препарату та препарату порівняння була продемонстрована, якщо значення 90% співвідношення ДІ геометричних середніх значень повинно становило 80,00% - 125,00% для показників $C_{max}$ та $AUC_{(0-t)}$ .
19. Демографічні	Демографічні та антропометричні показники, визначені до прийому

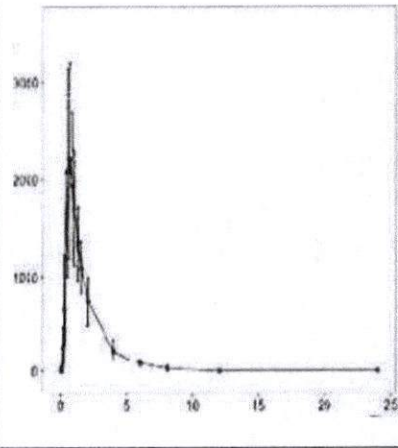
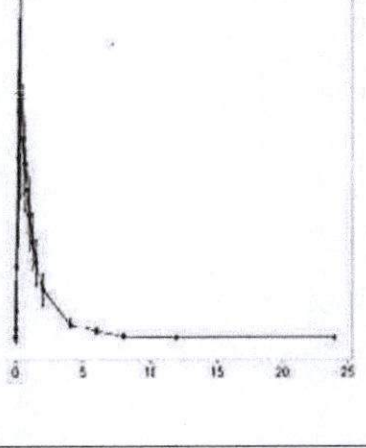
показники досліджуваної популяції (стать, вік, раса, тощо)	препаратів, підсумовані в таблиці 6 нижче:				
	Таблиця 6. Демографічні дані з урахуванням послідовності та в цілому				
			Послідовність		
	Параметр		А (N = 16)	Б (N = 14)	В цілому (N = 30)
	Стать – N(%)	Чоловіки	8 (50%)	7 (50%)	15 (50%)
		Жінки	8 (50%)	7 (50%)	15 (50%)
	Етнічна приналежність - N(%)	Не латино американці	16 (100%)	14 (100%)	30 (100%)
		Середній (СВ)	29,2 (6,00)	32,4 (6,77)	30,7 (6,46)
	Вік (років)	Медіана	30,5	31,5	30,5
		Мін. – макс.	20 – 40	23 – 45	20 - 45
		Середній (СВ)	22,4 (2,21)	24,6 (1,43)	23,4 (2,15)
	ІМТ (кг/м <sup>2</sup> )	Медіана	22,6	24,6	23,7
		Мін. – макс.	18,8 – 26,5	22,5 – 27,4	18,8 – 27,4
		Середня (СВ)	65,8 (8,59)	69,2 (7,03)	67,4 (7,96)
	Маса тіла кг) (Зріст (м)	Медіана	65	70,3	66,3
Мін. – макс.		52,5 – 84	56 – 82	52,5 – 84	
Середній (СВ)		171,3 (9,84)	167,8 (9,54)	169 (9,70)	
(Зріст (см)	Медіана	168,5	165,5	166,5	
	Мін. – макс.	169 – 190	154 – 185	154 – 190	
	Середня (СВ)	161,3 (8,59)	157,8 (7,03)	159,6 (7,96)	
Расова приналежність:	Білі або європейці	16 (100%)	14 (100%)	30 (100%)	

Примітка: А = DKP.TRIS, розчин оральний, без запивання водою (період 1 для ФК оцінки) та DKP.TRIS у формі таблеток (період 2 для ФК оцінки). Б = DKP.TRIS у формі таблеток (період 1 для ФК оцінки) та DKP.TRIS, розчин оральний, без запивання водою (період 2 для ФК оцінки)  
Джерело даних: таблиця 2.1 (додаток 16.1.9)

20. Результати ефективності  
ФК аналіз даних був проведений за даними ФК популяції, до якої належали усі 30 учасників. Була підтверджена біоеквівалентність DKP.TRIS, 25 мг, розчину для перорального застосування, при прийомі без запивання водою, та DKP.TRIS, 25 мг, таблетки, вкриті плівковою оболонкою, 90% ДІ геометричного середнього, розрахованого методом найменших квадратів, співвідношення значень AUC та C<sub>max</sub> при прийомі досліджуваного препарату / препарату порівняння відповідає прийнятному діапазону, 80,00% - 125,00%.

Досліджуваний ЛП	ФК параметр	Геометричні середні значення, розраховані за найменшими квадратами		Співвідношення (досліджуваний ЛП / ЛП порівняння Геометричні середні значення, розраховані за найменшими квадратами (%) та 90% ДІ*
		Досліджуваний ЛП: DKP.TRIS, розчин оральний (без запивання водою), 25 мг (N = 30)	ЛП порівняння: DKP.TRIS, 25 мг, таблетки, вкриті плівковою оболонкою (N = 30)	
Розчин оральний (без запивання водою)	AUC <sub>(0-1)</sub> (год * нг/мл)	3320,86	3649,79	91 (87,25 – 94,85)
	C <sub>max</sub> (нг/мл)	2611,16	2421,96	107,8 (94,4 – 123,15)

\* Результати, отримані в аналізі ANOVA з урахуванням періоду, послідовності, препарату та пацієнтів в кожній з послідовностей в якості фіксованих ефектів.

	<p style="text-align: center;">Таблетки по 25 мг</p> 	<p style="text-align: center;">Розчин оральний, 25 мг</p> 
<p style="text-align: center;">Час</p> <p>Малюнок 3. Середня (СВ) концентрація DKP.TRIS в плазмі крові – час після перорального прийому однієї дози DKP.TRIS, 25 мг, в таблетках (препарат порівняння) та DKP.TRIS, 25 мг, розчин оральний, без запивання водою (досліджуваний препарат), з урахуванням отриманого препарату, лінійний масштаб (N = 30).</p>		
<p>21. Результати безпеки</p>	<p>Серйозні побічні явища в дослідженні зареєстровані не були. Загалом у 3-х пацієнтів сталося 5 побічних явищ, усі з яких були побічними явищами, що виникли під час лікування (TEAEs). Цими явищами були головний біль (два явища у одного учасника), нудота, блювота та орофарингеальний біль (по одному явищу у різних учасників). Усі явища були низького чи середнього ступеня тяжкості. Три явища (нудота, блювота та головний біль) були класифіковані, як пов'язані з препаратами. Клінічно значущі аномальні результати лабораторних аналізів в період участі в дослідженні виявлені не були.</p>	
<p>22. Висновок (заключення)</p>	<p>Біоеквівалентність DKP, таблеток по 25 мг, була продемонстрована з DKP.TRIS, 25 мг, розчином оральним, при прийомі без запивання водою. Досліджуваний препарат, DKP.TRIS, 25 мг, розчин оральний, при прийомі без запивання водою, класифікований, як безпечний та добре переносимий, як і препарат порівняння, DKP.TRIS, таблетки, вкриті плівковою оболонкою.</p>	

Заявник (власник  
реєстраційного посвідчення)

(підпис)

представник заявника Дамаскіна А. В.  
(П. І. Б.)

{Порядок доповнено новим Додатком 30 згідно з Наказом Міністерства охорони здоров'я №  
1528 від 27.06.2019}