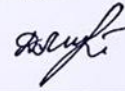


Міністерство освіти та науки України
Рівненський державний гуманітарний університет
Психолого-природничий факультет
Кафедра екології, географії та туризму

«До захисту допущено»
Завідувач кафедри



(підпис)

Д.В. Лико

(ініціали, прізвище)

“ 10 ” червня 2023 року

Пояснювальна записка
до кваліфікаційної роботи бакалавра

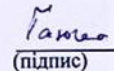
зі спеціальності 101«Екологія» (ОПП «Екологія (Прикордонний екологічний контроль)»)

(код і назва)

на тему: **«Контроль якості ін'єкційних лікарських засобів, які переміщуються через митний кордон України»**

Виконав (-ла): студент (-ка) IV курсу, групи Е-41
(шифр групи)

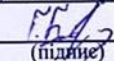
Гоюка Дмитро Андрійович
(прізвище, ім'я, по батькові)


(підпис)

Керівник доктор сільськогосподарських наук, завідувач кафедри екології, географії та туризму РДГУ Лико Д.В.
(посада, науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

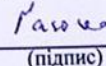

(підпис)

Рецензент доктор ветеринарних наук, завідувач кафедри гігієни, санітарії та ЗВП ЛНУВМ та БТ Гутий Богдан Володимирович
(посада, науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)


(підпис)

Засвідчую, що кваліфікаційна робота містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Студент


(підпис)

Оцінка за результатами захисту:

Національна шкала 82

Кількість балів: 82

Оцінка: ЄКТС B

Рівне - 2023 року

З М І С Т

№ з/п

с.

ВСТУП

Розділ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Розділ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Розділ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Контроль якості готового лікарського засобу

Визначення гострої токсичності препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) за одноразового внутрішньошлункового введення білим щурам

Визначення гострої токсичності препарату Целексиб за одноразового внутрішньошлункового введення білим мишам

Визначення гострої токсичності препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) за одноразового підшкірного введення білим щурам

Визначення гострої токсичності препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) за одноразового підшкірного введення білим мишам

Визначення токсичності препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) при повторних уведеннях на білих щурах (підгостра токсичність при підшкірному введенні)

Визначення токсичності препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) при повторних уведеннях на білих мишах (підгостра токсичність при підшкірному введенні)

ВИСНОВКИ

ЛІТЕРАТУРА

РЕЗЮМЕ

Проведені лабораторні дослідження з визначення гострої та підгострої токсичності ветеринарного препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) на білих мишах та щурах.

Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) – комплексний не стероїдний препарат. Його призначають великій рогатій худобі, вівцям, котам, коням, котам, собакам в якості засобу для лікування захворювань опорно-рухового апарату (гострих та хронічних) (артрити, ламініти, міозити тощо), постопераційного та посттравматичного больового синдрому, комплексної симптоматичної терапії при хворобах, які супроводжуються гарячкою.

За результатами токсикологічних досліджень ветеринарного препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) за умов одноразового внутрішньошлункового введення самкам білих щурів та самцям білих мишей показник LD_{50} розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14-ти днів після введення. При цьому максимальна введена доза (за абсолютною масою препарату) становила 40000,0 і 450000,0 мг/кг маси тіла відповідно, що дозволяє віднести препарат Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) до VI класу токсичності – речовини відносно нешкідливі ($LD_{50} > 15000,0$ мг/кг маси тіла), а за ступенем небезпечності до IV класу – малонебезпечних речовин ($LD_{50} > 5000,0$ мг/кг).

За результатами токсикологічних досліджень ветеринарного препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) за умов одноразового підшкірного введення самкам білих щурів та самцям білих мишей показник LD_{50} розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14-ти днів після введення. При цьому максимальна введена доза (за абсолютною масою препарату) становила 25000,0 і 400000,0 мг/кг маси тіла відповідно, що дозволяє за токсичністю віднести препарат до VI класу – відносно нешкідливих речовин ($LD_{50\text{Subcut}} > 4500$ мг/кг маси тіла).

При багаторазовому підшкірному введенні білим щурам препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) за умов підгострого токсикологічного експерименту в дозах 2,5; 12,5 і 25,0 мл/кг маси тіла не встановлено гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин. Проте у крові щурів, яким вводили препарат в дозі 12,5 мл/кг маси тіла на 6-ту і 11-ту добу дослідження реєстрували тенденцію до зниження вмісту загального гемоглобіну, еритроцитів та показника гематокриту, а за введення у дозі 25,0 мл/кг маси тіла – тенденцію до зниження вмісту загального гемоглобіну, вірогідне ($p < 0,05$) зниження кількості еритроцитів на 9,9 і 18,0 % та показника гематокриту – на 4,4 і 5,2 %; а в сироватці крові щурів за підшкірного введення препарату в дозі 25,0 мл/кг маси тіла на 6-ту і 11-ту добу дослідження спостерігали підвищення активності АСТ та концентрації сечовини на 5,4 і 6,5 % та 7,9 і 10,1 % відповідно відносно контролю ($p < 0,05$), а також тенденції до підвищення концентрації загальних протеїнів та креатиніну через 10 днів введення препарату, вищевказані показники не відрізнялися від контрольних через 7 днів після припинення введення препарату.

При багаторазовому підшкірному введенні білим мишам препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) за умов підгострого токсикологічного

експерименту в дозах 2,5; 12,5 і 25,0 мл/кг маси тіла не встановлено гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин. Проте у крові мишей, яким вводили препарат в дозі 12,5 мл/кг маси тіла на 6-ту і 11-ту добу досліду реєстрували тенденцію до зниження вмісту загального гемоглобіну, еритроцитів та показника гематокриту, а за введення у дозі 25,0 мл/кг маси тіла – тенденцію до зниження вмісту загального гемоглобіну, вірогідне ($p < 0,05$) зниження кількості еритроцитів на 8,8 і 16,0 % та показника гематокриту – на 5,1 і 6,1 %; а в сироватці крові мишей за підшкірного введення препарату в дозі 25,0 мл/кг маси тіла на 6-ту і 11-ту добу досліду спостерігали підвищення активності АСТ та концентрації сечовини на 6,3 і 6,6 % та 5,8 і 10,5 % відповідно відносно контролю ($p < 0,05$), а також тенденції до підвищення концентрації загальних протеїнів та креатиніну через 10 діб введення препарату, вищевказані показники не відрізнялися від контрольних через 7 діб після припинення введення препарату.

Звіт викладено українською мовою, на 29 с., містить 4 таблиці, 7 літературних посилань.

Ключові слова: Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування), ЩУРИ, МИШІ, ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ, ПІДГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ, ДОЗА.

ВСТУП

Ефективне лікування та профілактика захворювань великої рогатої худоби, що протікають зі зрушеннями кислотно-основного стану можлива лише за умов застосування комплексних препаратів-протекторів. Так, ТОВ

«

Д

Е
В Препарат Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) – комплексний нестероїдний препарат. Його призначають великій рогатій худобі, вівцям, котам, коням, собакам в якості засобу для лікування захворювань опорно-рухового апарату (гострих та хронічних) (артрити, ламініти, міозити тощо), постопераційного та посттравматичного больового синдрому, комплексної симптоматичної терапії при хворобах, які впроваджуються гарячкою.

п Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) призначають великій рогатій худобі в якості додаткового засобу корекції кислотно-основного стану при кетозах, ацидотичних станах (стресові фактори, хвороби інфекційної та неінфекційної етіології), токсикозах, гіпотрофії новонародженого молодняку.

о Отже, метою досліджень було надати токсикологічну (доклінічну) оцінку ветеринарного лікарського засобу Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) шляхом визначення його гострої та підгострої токсичності за перорального та підшкірного введення білим щурам та білим мишам.

Мета досліджень. Метою досліджень було проведення токсикологічної оцінки ветеринарного препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування), виробництва ТОВ «ДЕВІЕ» (сmt. Літин, Україна), за умов лабораторного, гострого та підгострого токсикологічних експериментів на моделі білих мишей і білих щурів.

е **Завдання роботи:**

т 1. Дослідити параметри якості препарату Целексиб (розчин для

е

р

и

ін'єкційного застосування).

2. Визначити параметри гострої токсичності препарату Целексиб внутрішньошлункового та підшкірного введення на білих щурах.

3. Визначити параметри гострої токсичності препарату Целексиб внутрішньошлункового та підшкірного введення на білих мишах.

4. Визначити параметри підгострої токсичності препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) при повторних уведеннях на білих щурах та мишах (підгостра токсичність за багаторазового підшкірного в

в *Об'єкт дослідження* – оцінювання безпеки нестероїдного лікарського засобу.

д *Предмет дослідження* – фармацевтичний ринок лікарських засобів; параметри якості та токсичності нестероїдного препарату.

н *Методи дослідження*: хімічні (дослідження показників якості); токсикологічні (доклінічні дослідження препарату) та статистичні (вірогідність отриманих результатів).

Розділ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Метилсаліцилат – речовина рослинного походження. За хімічною будовою це ментоловий ефір саліцилової кислоти (хімічна формула $C_8H_8O_3$), є компонентом вінтегренової ефірної олії, яку отримують з гаультерії лежачої (лат. *Gaultheria procumbens*), рослини сімейства верескові (лат. *Ericaceae*). Метилсаліцилат являє собою жовтувату рідину з вираженим специфічним запахом. На теперішній час застосовується переважно хімічно синтезований метилсаліцилат.

Синоніми: *Methylum salicylicum*, *Methyl 2-hydroxybenzoate*, *Salicylic acid methyl ester*, *Oil of wintergreen*, *Betula oil* Опис: прозора, безбарвна або жовтувата рідина Запах: характерний, солодкий, корінний.

Основний компонент вінтегренової ефірної олії, в даний час використовується переважно синтетичний метилсаліцилат.

Застосовують зовнішньо як знеболюючий і протизапальний засіб в суміші з хлороформом, терпентинною олією, жирними оліями. Використовується при виробництві ветеринарних лікарських засобів. Метилсаліцилат підсилює місцеву дію рослинних та ефірних олій.

Застосовують для виготовлення мазей і кремів як знеболювальний та протизапальний засіб, в суміші з диметилсульфоксидом, хлороформом, терпентиною олією, рослинними оліями для втирання при суглобовому і м'язовому ревматизмі, артритях, ексудативному плевриті, зменшує набряк і інфільтрацію запалених тканин.

У ветеринарних препаратах метилсаліцилат проникає через шкіру, чинить анальгетичний та протизапальний вплив. У ветеринарній медицині використовується у складі сумішей для профілактики:

- зовнішній протизапальний засіб, покращує периферичний кровообіг і полегшує болі при артрозах, невралгії, ударах, подряпинах, укусах комах;
- зігріваючий і протизапальний засіб при застудних захворюваннях (для розтирання і у вигляді інгаляцій);

■ для масажу рефлексогенних зон і розігріву м'язів коней до і після спортивних тренувань;

Метилсаліцилат (Methylis salicylas) (ДФУ, 2-е вид.) – безбарвна або злегка жовтувата рідина з характерним ароматичним запахом. Дуже мало розчиняється у воді Р, змішується з 96 % етанолом Р та етером, жирними й ефірними оліями. Відносна густина – від 1,180 до 1,186 [1].

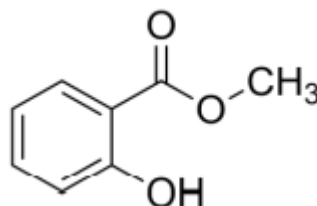


Рис. Хімічна будова метилсаліцилату

Метилсаліцилат має протизапальний, знеболювальний, подразнювальний та відволікаючий ефекти, в основі яких лежить вплив на підвищену проникність капілярів, процеси мікроциркуляції, гальмування активності медіаторів запалення, у тому числі брадикініну, що має альгогенну дію. Подразнення ментолом чутливих нервових закінчень спричиняє легкий місцевий знеболювальний ефект.

При місцевій аплікації швидко проникає в глибокі шари шкіри, абсорбується, гідролізується і перетворюється на аніон саліцилової кислоти [2, 3].

Метилсаліцилат є діючою речовиною багатьох зовнішніх препаратів для симптоматичного лікування скелетно-м'язового болю. При правильному застосуванні топічних засобів, які містять метилсаліцилат, рідко виникають токсичні явища.

Класичним застосування метилсаліцилату як знеболювального і протизапального засобу є суглобовий і м'язовий ревматизм, артрити, остеохондроз, ексудативний плеврит.

Токсичність і метаболізм метилсаліцилату досліджували на підставі переконання, що він функціонує головним чином як його гідролітичний продукт, вільний саліцилат. Метилсаліцилат має по суті такий же LD₅₀ у мишей, як і саліцилат натрію. Аналіз плазми на метилсаліцилат і вільний саліцилат після перорального введення ефіру щурам і собакам демонструє повний гідроліз незабаром після введення, тоді як у людей гідролізується дещо менше. Не виявлено підвищення концентрації саліцилату в мозку після введення ефіру щурам порівняно з ацетилсаліциловою кислотою та саліцилатом натрію. Основним місцем гідролізу метилсаліцилату у щурів, кроликів, собак і мавп є печінка, хоча кишечник, нирки, підшлункова залоза та селезінка можуть відігравати незначну роль у такому розпаді. Виявляється, що у нижчих тварин токсичність метилсаліцилату по суті ідентична токсичності саліцилової кислоти, хоча можна припустити, що у людини невелика частка негідролізованого ефіру може мати більш токсичну дію [7].

Введення метилу і натрію саліцилатів у мавп і собак викликає первгипервентиляція зі зниженням напруги CO₂ в крові, що призводить до алкалотичної тенденції, що може або не може супроводжуватися зниженням бікарбонату. Часто знижений загальний спостерігалися концентрації електролітів. Низький концентрації неорганічного фосфору та окалію виявлено.

Дія пентобарбіталу натрію, барбіталу натрію, паральдегіду та морфіну на гіперпное при саліцилізмі вивчали у собак. Гіпервентиляція може бути пригнічена і нормальними значеннями для рН і CO₂, відновлених введенням пентобарбітал натрію. Досліджено всі снодійні препарати виявилось, що посилює токсичність саліцилатів.

Встановлено, що морфін має судомну дію без помітного зменшення гіперпное.

Вплив натрію гідрокарбонату на електролітну структуру крові при саліцилізмі у собак полягала в підвищенні рН і вмісту бікарбонату без впливу

на напругу CO₂. Введення бікарбонату натрію, як правило, виявилось ефективним скорочують тривалість інтоксикації саліцилатами, але в 1 тварини сталася летальна тетанія [8].

Метилсаліцилат проникає крізь шкіру та має знеболювальну і протизапальну дію.

Метилсаліцилат може всмоктуватися через непошкоджену шкіру. При цьому дана речовина по-різному всмоктується з різних ділянок шкіри, наприклад шкіра мошонки абсорбує у 40 разів більше саліцилату, ніж шкіра спини або кінцівок. Метилсаліцилат не можна наносити на пошкоджену шкіру (наприклад із відкритими ранами, опіками, при еритремії), враховуючи підвищення його системної токсичності (Thompson T.M. et al., 2016). Швидкість всмоктування метилсаліцилату з непошкодженої шкіри збільшується при повторному нанесенні. У середньому при нанесенні метилсаліцилату на шкіру його рівень у підлягаючих тканинах у 30 разів вищий, ніж у плазмі крові (Cross S.E. et al., 1998). У шкірі метилсаліцилат гідролізується до саліцилової кислоти. Саліцилова кислота — це клітинна отрута, яка при передозуванні невідбирково порушує клітинний метаболізм. Ознаками отруєння метилсаліцилатом є гіперстимуляція дихального центру центральної нервової системи, а саме гіперпноє, тахіпноє. Пацієнти відмічають шум у вухах, гіперпірексію та підвищене потовиділення. Визначаються зневоднення, електролітні порушення, порушення рівня глюкози в сироватці крові. Можливі гостре пошкодження легень, летаргія, кома, судоми, набряк головного мозку та летальний наслідок. Лікування отруєння метилсаліцилатом повинно включати інфузію натрію бікарбонату (сприяє підвищеному виведенню саліцилатів із сечею), у тяжких випадках можливе проведення гемодіалізу. Необхідним є моніторинг рівня калію в плазмі крові та його корекція за необхідності. Проводиться симптоматична терапія (Thompson T.M. et al., 2016).

Джерело: <https://compendium.com.ua/dec/273428/>

Метилсаліцилат-2-О-β-D-лактозид (MSL), природне похідне саліцилату *Gaultheria yunnanensis* (Franch.) Rehder (*G. yunnanensis*), продемонструвало сприятливий протизапальний ефект на тваринних моделях. Дослідження фармакокінетики та біодоступності MSL можуть забезпечити як суттєву основу для розуміння його механізму, так і емпіричні докази на підтримку його використання в клінічній практиці. Простий і чутливий метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) у поєднанні з ультрафіолетовим виявленням аналіту був розроблений для визначення концентрації MSL та його метаболіту в плазмі бігля. Хроматографічне розділення було досягнуто на колонці Agilent Zorbax SB-C18 (5 мкМ, 4,6 × 250 мм). Рухома фаза складалася з водного розчину, що містив 0,1% фосфорну кислоту та ацетонітрил (82:90, об./об.), зі швидкістю потоку 1 мл/хв. Валідація аналізу продемонструвала, що розроблений метод ВЕРХ був чутливим, точним і селективним для визначення MSL та його метаболіту в плазмі собак. Після перорального введення трьох доз MSL він більше не міг бути виявлений у плазмі собаки, і був виявлений його метаболіт, саліцилова кислота. Саліцилова кислота показала один пік на кривих концентрації в плазмі від часу та лінійну фармакокінетику після трьох пероральних доз ($r(2) > 0,99$). Навпаки, лише MSL було виявлено в плазмі після внутрішньовенного введення. Ці результати допоможуть зрозуміти фармакологічне значення MSL. Розроблений метод був успішно використаний для оцінки перорального та внутрішньовенного фармакокінетичного профілю MSL у собак [5, 6].

Дефіцит нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗЗ) для мінімізації болю у овець спонукав до поточного дослідження. Метою цього дослідження було дізнатися фармакокінетичні параметри саліцилової кислоти у новозеландських овець після введення кількох внутрішньовенних і пероральних доз саліцилату натрію (натрієвої солі саліцилової кислоти). Результати дослідження свідчать про те, що період напіввиведення препарату був коротшим, а кліренс швидшим після внутрішньовенного введення

порівняно з пероральним. У поточному дослідженні після внутрішньовенного введення 100 і 200 мг/кг маси тіла натрію саліцилату мінімальна ефективна концентрація, необхідна для знеболення у людей (16,8 мкл), була досягнута у овець протягом приблизно 0,17 години. Однак при пероральному введенні цих доз не вдалося досягти мінімальної ефективної концентрації, як зазначено вище. Це дослідження є важливим, оскільки воно додає цінну інформацію про фармакокінетику та її варіації в залежності від породи, виду, віку, статі та умов навколишнього середовища. Наскільки відомо авторам, це єдине дослідження, яке демонструє детальну інформацію про поглинання, розподіл і виведення саліцилової кислоти новозеландськими вівцями. Внутрішньовенне введення саліцилату натрію в дозах 100 і 200 мг/кг може спричинити аналгезію у овець, що потребує подальшого дослідження з використанням фармакокінетично-фармакодинамічних (PKPD) методів інтеграції або моделювання.

У літературі наявні дані щодо фармакокінетичних параметрів саліцилової кислоти у новозеландських овець після введення кількох внутрішньовенних і пероральних доз саліцилату натрію (натрієвої солі саліцилової кислоти). Результати дослідження свідчать про те, що період напіввиведення препарату був коротшим, а кліренс швидшим після внутрішньовенного введення порівняно з пероральним. У поточному дослідженні після внутрішньовенного введення 100 і 200 мг/кг маси тіла натрію саліцилату мінімальна ефективна концентрація, необхідна для знеболення у людей (16,8 мкл), була досягнута у овець протягом приблизно 0,17 години. Однак при пероральному введенні цих доз не вдалося досягти мінімальної ефективної концентрації, як зазначено вище. Це дослідження є важливим, оскільки воно додає цінну інформацію про фармакокінетику та її варіації в залежності від породи, виду, віку, статі та умов навколишнього середовища. Наскільки відомо авторам, це єдине дослідження, яке демонструє детальну інформацію про поглинання, розподіл і виведення саліцилової кислоти новозеландськими вівцями. Внутрішньовенне введення

саліцилату натрію в дозах 100 і 200 мг/кг може спричинити аналгезію у овець, що потребує подальшого дослідження з використанням фармакокінетично-фармакодинамічних (PKPD) методів інтеграції або моделювання [9].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Інформація про дослідний препарат

Назва препарату:

Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування)

Опис: Безколірний розчин для ін'єкцій та інфузій.

Склад: 1 мл препарату містить діючі речовини: метамізолу натрію – 5000 мг, целекоксибу – 2 мг, наповнювач – до 1 мл.

Фармакологічні властивості: Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) – комплексний препарат-коректор кислотного-основного стану. Препарат має виражені залужнюючі властивості, проте не спричиняє різкого зростання рН крові та міжклітинної рідини завдяки наявності забуферених сполук. Відповідно, не виникає компенсаторна гіпервентиляція легень та посилення ацидозу. Внаслідок фізіологічного значення рН препарату, його можна вводити підшкірно. Сполуки-регулятори кислотності, які входять до складу препарату, не впливають на концентрацію глюкози та інсуліну в крові, відповідного порушення метаболізму вуглеводів та ліпідів у печінці, тому застосування препарату є доцільним при кетозах та гепатодистрофіях.

Застосування: Призначають великій рогатій худобі. Застосовують профілактично та терапевтично в якості засобу корекції кислотного-основного стану при кетозах, ацидотичних станах (стресові фактори, хвороби інфекційної та неінфекційної етіології), токсикозах, гіпотрофії новонародженого молодняку.

Дозування: Препарат застосовують внутрішньовенно, інтраперитонеально або підшкірно, раз на добу таких дозах:

Доросла велика рогата худоба – 250-750 мл.

Новонароджені телята – 2,5-3,5 мл на 1 кг маси тіла.

Термін лікування 1-6 діб.

Протипоказання: Індивідуальна чутливість до компонентів препарату. Не змішувати з розчинами, які володіють кислотними властивостями

(аскорбінова кислота. тощо).

Період виведення (каренція): Продукцію тваринництва використовують без обмежень.

Форма випуску: Флакони по 100 мл.

Зберігання: В сухому темному місці при температурі від 10 до 25 °С.

Термін придатності: 2 роки.

Для застосування у ветеринарній медицині!

Дослідження проведено у віварії ТОВ «ДЕВІЕ». Приміщення загальною площею 50 м², де під контролем спеціалістів ТОВ «ДЕВІЕ» здійснюється утримання відносно невеликої кількості тварин з науковою метою. Раціон харчування включає всі необхідні інгредієнти. Лабораторні тварини містилися в звичайних клітках (8 кліток) з площею підлоги 40х60 см, тобто з достатньою площею для вільного пересування та двох клітках розміром 20х40 см, де площа для пересування була зменшена в 3 рази.

Лабораторні дослідження крові тварин проводили на базі лабораторії з контролю якості, безпечності та реєстрації ветеринарних лікарських засобів і кормових добавок ТОВ «ДЕВІЕ» на обладнанні:

- багатофункціональний мікропланшетний фотометр – ImmunoChem-2100;
- Immunochem-2200-2 – термошейкер з використанням двох планшетів та набору лабораторних реактивів вітчизняного підприємства «Філісіт-Діагностика»,
- лабораторна верхньопривідна мішалка Windaus RW 16 basic;
- інкубатор лабораторний (термостат);
- шафа витяжна Salex 1200;
- устаткування для ЛАЛ-тестів;
- вага електронна А2500.

Визначення параметрів гострої токсичності препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) за одноразового

внутрішньошлункового введення білим щурам.

Дослідження параметрів гострої токсичності препарату були проведені на 42 нелінійних білих щурах-самках 4-місячного віку, масою (220-230) г відповідно до рекомендацій [10], що утримувались за оптимальних умов віварію [10-12]: температура у приміщенні складала $(18\pm 2)^{\circ}\text{C}$, відносна вологість повітря (60 – 70) %, цикл освітлення день–ніч, упродовж експерименту, складав (10 – 14) год, а також було забезпечено 10-ти разову зміну об'єму повітря в кімнаті віварію за годину.

Для годівлі щурів використовували повнораціонний комбікорм для гризунів. Тварини мали вільний доступ до води та корму.

Перед початком досліджень кожен тварину зважували. Дози препарату, що вводили, розраховували індивідуально, відповідно до маси кожного щура. За принципом аналогів було сформовано 6 дослідних груп: щурам вводили препарат у дозах 15000,0; 20000,0; 25000,0; 30000,0; 35000,0 і 40000,0 мг/кг маси тіла за абсолютною масою препарату одноразово (доза 15000,0 мг/кг), дворазово (دوزи 20000,0 і 25000,0 мг/кг), триразово (доза 30000,0 мг/кг) і 4-разово (دوزи 35000,0 і 40000 мг/кг маси тіла) перорально за допомогою стравохідно-шлункового зонду. Доза 40000,0 мг/кг маси тіла була максимально можливою для введення, враховуючи об'єм шлунку щурів.

Щурам контрольної групи за аналогічним регламентом вводили воду для ін'єкцій в об'ємі $2,5\text{ см}^3$. У кожній групі (як дослідних, так і контрольній) було по 6 щурів ($n=6$).

За клінічним станом дослідних щурів спостерігали упродовж 14 діб. Відмічали можливу появу та розвиток клінічних ознак отруєння, строки загибелі або відновлення до фізіологічної норми. Під час клінічного обстеження щурів звертали увагу на поведінку, реакцію на зовнішні подразники, наявність апетиту, стан шерстного покриву, колір слизових оболонок, частоту дихання та дефекації, зміни кольору фекалій тощо.

Визначення параметрів гострої токсичності препарату Целексиб

(

р Експеримент було проведено на 42 самцях нелінійних білих мишей (3-4)-місячного віку і масою (24 – 25) г, що утримувались за оптимальних умов віварію [10-12]: температура у приміщенні складала $(18\pm 2)^{\circ}\text{C}$, відносна вологість повітря (60 – 70) %, цикл освітлення день-ніч, упродовж експерименту, складав (10 – 14) год, а також було забезпечено 10-ти разову зміну об'єму повітря в кімнаті віварію за годину.

Для годівлі мишей використовували повнораціонний комбікорм для дризунів. Тварини мали вільний доступ до води та корму.

л Перед початком досліджень кожну тварину зважували. Дози препарату, що вводили, розраховували індивідуально, відповідно до маси кожної миші. За принципом аналогів було сформовано 6 дослідних груп: мишам вводили препарат Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) в дозах 20000,0; масою препарату одноразово перорально за допомогою стравохідно-шлункового зонду. Доза 45000,0 мг/кг маси тіла була максимально можливою для введення, враховуючи фізіологічний об'єм шлунку мишей.

к

ц Мишам контрольної групи за аналогічним регламентом вводили дистильовану воду в об'ємі 0,2 см³. У кожній групі (як дослідних, так і контрольній) було по 6 мишей (n=6). Загальний термін дослідження склав 4 діб.

о

г *Визначення параметрів гострої токсичності препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) за одноразового підшкірного введення білим щурам*

з Експеримент було проведено на 36 самках нелінійних білих щурів (3 – 4)-місячного віку і масою (200 – 210) г, що утримувались за оптимальних умов віварію [10-12]: температура у приміщенні складала $(18\pm 2)^{\circ}\text{C}$, відносна вологість повітря (60 – 70) %, цикл освітлення день-ніч, упродовж експерименту, складав (10 – 14) год, а також було забезпечено 10-ти разову

с

у

в

зміну об'єму повітря в кімнаті віварію за годину.

Для годівлі щурів використовували повнораціонний комбікорм для гризунів. Тварини мали вільний доступ до води та корму.

Перед початком досліджень кожен тварину зважували. Дози, що вводили, розраховували індивідуально, відповідно до маси кожного щура, при цьому об'єм препарату, що вводили підшкірно, не перевищував 5,0 см³ (рекомендована максимально можлива доза для підшкірного введення щурам даної вагової категорії).

З цією метою в експерименті за принципом аналогів було сформовано контрольну і 5 дослідних груп, щурам яких вводили препарат у дозах – 5000,0; 10000,0; 15000,0; 20000,0 і 25000,0 мг/кг маси тіла, а також контрольну групу, тваринам якої вводили стерильну воду для ін'єкцій об'ємом 2,0 см³ за аналогічним регламентом. У кожній групі було по 6 тварини (n=6).

Слід зазначити, що маніпуляції над щурами здійснювали відповідно до існуючих нормативних документів [13-15], що регламентують організацію робіт із використанням експериментальних тварин і дотриманням принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986).

За клінічним станом дослідних тварин спостерігали упродовж 14 діб, відмічаючи появу та розвиток клінічних ознак отруєння, строки загибелі або відновлення до фізіологічної норми. Під час клінічного обстеження щурів звертали увагу на поведінку, реакцію на зовнішні подразники, наявність апетиту, стан шкіри, колір слизових оболонок, частоту дихання та дефекації, зміни кольору та консистенції фекалій тощо [10-12].

Після загибелі (діагностичного забою) тварин робили патологоанатомічний розтин. Для підтвердження змін патологоанатомічних використовували макроскопічний метод досліджень [16].

Визначення параметрів гострої токсичності препарату Целексиб

(розчин для ін'єкційного застосування) за одноразового підшкірного введення білим мишам

Експеримент було проведено на 36 самцях нелінійних білих мишей (4-5)-місячного віку і масою (22-24) г, що утримувались за оптимальних умов віварію [10-12]: температура у приміщенні складала $(18\pm 2)^{\circ}\text{C}$, відносна вологість повітря (60 – 70) %, цикл освітлення день–ніч, упродовж експерименту, складав (10 – 14) год, а також було забезпечено 10-ти разову зміну об'єму повітря в кімнаті віварію за годину.

Для годівлі мишей використовували повнораціонний комбікорм для гризунів. Тварини мали вільний доступ до води та корму.

Перед початком досліджень кожен тварину зважували. Дози, що вводили, розраховували індивідуально, відповідно до маси кожної миші, при цьому об'єм препарату, що вводили підшкірно за один раз, не перевищував $1,0\text{ см}^3$.

З цією метою в експерименті було сформовано 5 дослідних груп, мишам яких підшкірно вводили препарат у дозах – 5000,0; 10000,0; 20000,0; 30000,0 і 40000,0 мг/кг маси тіла, а також контрольну групу, тваринам якої вводили стерильну воду для ін'єкцій об'ємом $0,2\text{ см}^3$ за аналогічним регламентом. У кожній групі було по 6 тварини ($n=6$).

Слід зазначити, що маніпуляції над мишами здійснювали відповідно до існуючих нормативних документів [13-15], що регламентують організацію робіт із використанням експериментальних тварин і дотриманням принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986).

За клінічним станом дослідних тварин спостерігали упродовж 14 діб, відмічаючи появу та розвиток клінічних ознак отруєння, строки загибелі або відновлення до фізіологічної норми. Під час клінічного обстеження мишей звертали увагу на поведінку, реакцію на зовнішні подразники, наявність апетиту, стан шкіри, колір слизових оболонок, частоту дихання та дефекації, зміни кольору та консистенції фекалій тощо [1-3].

Після загибелі (діагностичного забою) тварин проводили патологоанатомічний розтин. Для встановлення патологоанатомічних змін використовували макроскопічний метод досліджень [16].

У досліді мишам підшкірно вводили Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) у дозах 5000,0; 10000,0; 20000,0; 30000,0 і 40000,0 мг/кг маси тіла. Клінічні спостереження показали, що підшкірне введення препарату мишам I–V дослідних груп не викликало картини гострого отруєння. Миші були рухливі, добре реагували на зовнішні подразники, активно споживали корм та воду. Виключення складало незначне у дозах 20000,0-40000,0 мг/кг маси тіла. Загибелі мишей у цих групах не спостерігали. У місці введення препарату не відмічали болючості та припухлості протягом терміну досліджень, кулька після введення препарату зникла протягом доби після введення.

На 15-ту добу після введення проводили діагностичний забій мишей та патологоанатомічний розтин. Під час огляду трупів (зовнішнього) дослідних лабораторних тварин встановлено, що шерсть була блискуча; витікань з ротової, носової порожнини та ануса не спостерігали. На розтині у мишей: не реєстрували змін трахеї, глотки, слизових оболонок ротової порожнини та стравоходу; у місці введення не виявляли запалення підшкірної клітковини та гематом; шлунок із залишками корму, без ознак запалення; серце не збільшене в об'ємі, передсердя не кровонаповнені; кров згорнута; печінка не збільшена в об'ємі, темно коричневого кольору, пружної консистенції; легені, селезінка, підшлункова залоза та нирки – без змін; у тонкому та товстому кишечнику не встановлено патологічних відхилень у порівнянні з нормою.

Визначення токсичності препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) при повторних уведеннях на білих щурах (підгостра токсичність при підшкірному введенні)

Підгостру токсичність препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного

з

а

с

П

т

р

о

є

Для досліду було сформовано одну контрольну та три дослідні групи до 24 щура у кожній (n=24): I група — тварини, яким підшкірно вводили стерильну воду для ін'єкцій (контрольна група), II група — тварини, яким вводили дослідний препарат у дозі 2,5 мл/кг маси тіла (терапевтична, згідно

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

н

досліджували на 96 лабораторних статевозрілих щурах-самцях, масою (200,0-220,0) г.

Відбір проб крові для гематологічних та біохімічних досліджень проводили за умов тотального знекровлення під легким хлороформним наркозом до введення препарату, на 6-ту, 11-ту і 18-ту добу експерименту відповідно.

Оцінювання функціонального стану організму дослідних тварин у порівнянні з контрольними впродовж експерименту проводили за визначенням клініко-біохімічних показників у крові за загальноприйнятими методиками.

У стабілізованій крові тварин визначали: кількість еритроцитів, лейкоцитів, рівень гематокриту та вміст загального гемоглобіну; у сироватці крові – активність індикаторних ензимів аланінамінотрансферази (АЛТ) та аспаратамінотрансферази (АСТ), рівень загальних протеїнів, глюкози, загального холестеролу, сечовини та креатиніну відповідно.

Отримані результати обробляли перевіреними методами варіаційної статистики з використанням пакета програм StatPlus 5.9.8.5. Дані представляли у вигляді середніх значень зі стандартним відхиленням за рівнем довірчої ймовірності 95 %, вірогідність отриманих результатів оцінювали за критерієм Фішера.

У динаміці підгострого експерименту (щоденно) у щурів вивчали

і

н

,

інтегральні показники (поведінка тварин, зовнішній вигляд, реакції на зовнішні подразники, споживання води та корму, а також показники, які характеризують функції органів і систем, з використанням загально прийнятих методів.

Установлено, що під час дослідження загального клінічного стану щурів дослідних груп суттєвих змін у поведінці та зовнішньому вигляді не виявлено, порівняно з контролем.

Протягом всього терміну спостереження (18 діб) тварини були активними, мали задовільний апетит, добре реагували на звукові та світлові подразники, у них зберігалась рефлекторна збудливість; порушення дихання, сечовиділення та дефекації не відмічали. Виключення складало незначне маси тіла, яке зникало протягом доби після введення.

III. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Контроль якості лікарського засобу

Методи контролю

1. Визначення маси одиниці фасування

Прилади та обладнання

Ваги лабораторні технічні типів ВЛТ-200, ВЛТ-1, ВЛТК-500, ВЛТК-5 та ВЛТК-10, згідно з ГОСТ 24104 або ваги електронні А-500.

Міри маси загального призначення та зразкові, згідно з ГОСТ 7328.

Проведення контролю

Визначення маси фасування препарату здійснюється зважуванням кожного з відібраних для контролю, упакувань та перевіркою результатів вимірювань на відповідність встановленому відхиленню для одного упакування, згідно з ГОСТ 27025.

Вимірювання здійснюють з точністю, максимально допустимою для даного вимірювального засобу, в межах найменшого та найбільшого допустимих навантажень (для ваг).

Обчислення результатів контролю

Масу вмісту одного фасування препарату встановлюють як різницю між масою препарату в упакуванні та масою ретельно очищеної від вмісту, вимитої та висушеної споживчої тари (пластиковий контейнер) маси вмісту одиниць фасування препарату повинні відповідати значенням., наведеним у таблиці 1.

2. Визначення зовнішнього вигляду, кольору, запаху

Зовнішній вигляд, колір визначають візуально (ГФ XI, вип. 1, с. 194, с.198) порівняно з мажевою основою.

Препарат повинен представляти собою густу однорідну масу білого кольору зі специфічним запахом.

3. Визначання ідентичності метамізолу натрію

Дослідження ідентичності проводять спеціальним методом високорідинної хроматографії, рівняючи час виходу піків метамізолу натрію на хроматограмах робочого розчину стандартного зразка (РРСЗ) із часом виходу піків, що відповідають метамізолу натрію на хроматограмах РРДП – робочого розчину дослідної проби. Різниця в часі виходу не повинна перевищувати відносного стандартного відхилення, обчисленого для РРСЗ з п'яти послідовних хроматограм, але не більше порівнюючи з Державною ФУ 2.0,2015, с. 132 [1].

4. Визначання кількісного вмісту метамізолу натрію

Визначання кількісного вмісту метамізолу натрію в препараті проводять одночасно із визначанням ідентичності шляхом обчислення площ піків (див. **Обчислення результатів визначання**).

Готування до проведення визначання

Обладнання, посуд, реактиви.

- комплексна система ефективної високорідинної хроматографії, яка забезпечує створення тиску для прокачування елюента через сертифіковану аналітичну колонку зі швидкістю 1,0 мл/хв;
- оптичний детектор, який забезпечує виявлення спеціального сигналу від елюента за густиною (оптичною) при довжини хвилі 270 нм (або при використанні скануючого спектрофотометричного детектора – в ділянці (192 – 400) нм);
- колонка хроматографічна, розміри: (150 × 4,6) мм, заповнена сорбентом Kinetex ХВ-С18 5 мкм;
- ваги сертифіковані аналітичні висоточні, зважування 0,0001 г;
- баня ультразвукова УЗУ-01 або аналогічна;
- метамізолу натрію сертифікований стандартний зразок (CAS Number 5907-38-0);
- ацетонітрил для хроматографії, кваліфікації не гірше “for HPLC”;
- калій дигідрогенфосфат, хімічно чистий;

- фільтри мембранні 0,2-0,5 мкм – розміром пор, стійкі до органічних розчинників;

- вода очищена *P*, згідно з ДФУ 2.0, 2015, с. 602;

– посуд (лабораторний) згідно з 4787:2009 ДСТУ ISO.

Готування розчину рухомої фази

Зважують 2,72 г калію дигідрогенфосфату, переносять у склянку місткістю 1000 мл, додають 950 мл води очищеної *P*, розчиняють, перемішуючи з допомогою магнітної мішалки. Вміст склянки переносять у спеціальну мірну колбу об'ємом 1000 мл та доводять об'єм розчину до позначки водою очищеною *P*, перемішують (розчин 1).

Рухомою фазою є суміш ацетонітрил : розчин 1 у співвідношенні 35 : 65.

Розчин рухомої фази можна зберігати за 4° С у закритому посуді протягом двох тижнів.

Співвідношення компонентів рухомої фази можна змінювати для забезпечення достатнього розділення піків на хроматограмах розчинів досліджуваних зразків згідно з ДФУ 2.0, 2015, с. 133.

Готування розчину стандартного зразка (РСЗ) метамізолу натрію

У сертифіковану мірну колбу місткістю 100 мл поміщають близько 100 мг (точна наважка) метамізолу натрію, додають 80 мл рухомої фази та піддають дії ультразвуку впродовж 5 хвилин. Колбу охолоджують до кімнатної температури та доводять об'єм рухомою фазою до позначки (розчин 2).

1 мл розчину 2 вносять у мірну колбу місткістю 10 мл, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки, перемішують і фільтрують крізь мембранний фільтр з діаметром пор 0,2-0,5 мкм (розчин 3).

Розчин 3 придатний протягом двох діб за зберігання в холодильнику при відповідній температурі у пришліфованим закритому корком посуді.

1 мл розчину 3 містить близько 100 мкг метамізолу натрію.

Готування робочого розчину досліджуваної проби (РРДП)

У колбу місткістю 100 мл вносять 5 г препарату розчин для ін'єкцій на основі метамізолу натрію, додають 75 мл рухомої фази та піддають дії ультразвуку впродовж 15 хвилин. Колбу охолоджують до кімнатної температури та доводять об'єм рухомою фазою до позначки, перемішують (розчин 4).

1 мл розчину 4 вносять у мірну колбу місткістю 10 мл, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки, перемішують і фільтрують крізь мембранний фільтр з діаметром пор 0,2-0,5 мкм (розчин 5).

Розчин досліджуваної проби використовують свіжоприготованим.

5. Проведення визначання

Одержують почергово не менше, ніж по 5 хроматограм робочого розчину стандартного зразка і досліджуваної проби за наступних умов:

- колонка хроматографічна, розміри: (150 × 4,6) мм, заповнена сорбентом Kinetex ХВ-С18 5 мкм;
- рухома фаза: згідно з пунктом «Готування розчину рухомої фази», дегазована будь-яким зручним способом;
- швидкість потоку рухомої фази - 1,0 мл/хв;
- виявлення за довжини хвилі 270 нм;
- температура колонки +25 °С;
- масштаб реєстрації - 0,5 одиниці оптичної густини;
- інтегрування сигналу - комп'ютерне інтегрування;
- об'єм ін'єкції – 0,005 мл.

6. Перевіряння придатності хроматографічної системи

Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються наступні умови:

- ефективність хроматографічної колонки обчислюють за піками діючої речовини згідно з ДФУ 2.0, 2015, с. 129. За описаних умов аналізу кількість теоретичних тарілок повинна складати не менше 2000;

– відносний стандартний відхил для площі піка діючої речовини, розрахований з хроматограм РРСЗ не більший, ніж рекомендовано у ДФУ 2.0, 2015, с. 130;

Коефіцієнт симетрії піку (A) обчислюють згідно з ДФУ 2.0, 2015, с. 130 за наступною формулою: $A = \frac{W_{0,05}}{2d}$;

де, $W_{0,05}$ - ширина піка на одній двадцятій висоти піка;

d - відстань між перпендикуляром, опущеним з максимуму піка, і передньою межею піка на одній двадцятій висоти піка.

За описаних умов аналізу коефіцієнт симетрії піка діючої речовини повинен знаходитись в межах 0,8 - 1,5.

7. Обчислення результатів визначання

Обчислення вмісту метамізолу натрію у препараті «Мазь дібутоалестін» (X), у мг/г проводять за співвідношенням площ відповідних піків на хроматограмах досліджуваної проби і стандартного зразка за наступною формулою:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot F_1 \cdot P_0}{S_0 \cdot m_1 \cdot F_0 \cdot 100};$$

де, S_0 – середнє значення площ піків діючої речовини, обчислене за хроматограмами РРСЗ;

S_1 – середнє значення площ відповідного піку, обчислене за хроматограмами РРДП;

F_0 – розрахунковий кінцевий об'єм за умови одноступеневого розведення при приготуванні РРСЗ, мл;

F_1 – розрахунковий кінцевий об'єм за умови одноступеневого розведення при приготуванні РРДП, мл;

m_0 – маса наважки речовини порівняння, використана для приготування РРСЗ, мг;

m_1 – маса препарату, використана для приготування РРДП, г;

$\frac{P_0}{100}$ – ступінь чистоти речовини порівняння, якщо P_0 виражене у % *

*Примітка: якщо P_0 виражене часткою від одиниці, коефіцієнт 100 у знаменнику не використовується.

8. Визначення токсичності

Субстанція метамізолу натрію належить до класу малотоксичних речовин, не виявляють місцево подразнювальної та алергізуючої дії.

Відбір проб для кожної серії проводиться згідно СОП 059 (1) Відбір середньої проби готової продукції.

Визначення усіх показників контролю для кожної серії проводиться фахівцем лабораторії КЯБРВЛЗ та кормових добавок.

Таблиця 3.1

Характеристика лікарського засобу

Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування)		
Заявник:	ТОВ ДЕВІЕ	
Підприємство виробник:	ТОВ ДЕВІЕ	
Реєстраційне посвідчення №: (інші умови):	Дослідна партія	
Серія №: 01122 , контроль №	Виготовлений: 01.2022 р. Придатний 2 роки	
Загальний об'єм серії	200 мл	
Об'єм одиниці фасування	по 1 мл, 2 мл в ампулах № 10	
Найменування показника	Характеристики та норми	Результат випробування
1. Опис	Прозора, безбарвна або злегка жовтувата рідина	Відповідає
2. Об'єм заповнення одиниці спожиткового пакування	100,0 мл + 2,0%	100,6 мл
3. Ідентичність метамізолу натрію	Позитивна	Відповідає вимогам
4. Вміст метамізолу натрію, мг/мл	500 мг/мл ± 10,0%	500,5 мг/мл
6. Стерильність	Повинен бути стерильним	Стерильний

Отже, за перевіреними показниками препарат «Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування)», серії 010122, відповідає вимогам СОП 059 (1).

Встановлено також, що ветеринарний лікарський засіб Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) у своєму складі не містить генетично модифіковані організми (GMOs), не становить ризику для життя і здоров'я тварин і людей, під час його державної реєстрації в нашій країні.

3.2. Визначення гострої токсичності препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) за одноразового внутрішньошлункового введення білим щурам

У результаті одноразового внутрішньошлункового введення щурам-самкам препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) в дозах (за абсолютною масою) 15000,0; 20000,0; 25000,0; 30000,0; 35000,0 і 40000,0 мг/кг маси тіла були отримані наступні результати. Клінічні спостереження показали, що внутрішньошлункове введення препарату щурам I–III дослідних груп не викликало картини гострого отруєння. Щури були рухливі, добре реагували на зовнішні подразники, активно споживали корм та воду. Загибелі щурів у цих групах не спостерігали.

За кратного введення препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) щурам IV-VI дослідних груп після останнього введення препарату у тварин реєстрували збудження, часте дихання, відмову від корму та води, збільшення актів сечовипускання та дефекації. Таку симптоматику виявляли протягом доби після введення, далі до (2-3)-ої доби клінічний стан тварин поступово відновлювався і не відрізнявся від такого в контролі, характерною в даний період для цієї групи тварин була спрага. Загибелі щурів у цих групах також не спостерігали протягом 14 діб після введення.

На 15-ту добу після введення проводили евтаназію щурів з використанням хлороформного наркозу та патологоанатомічний розтин. Під час зовнішнього огляду трупів дослідних тварин не спостерігали витікань з ротової, носової порожнини та ануса.

На розтині у щурів реєстрували:

- слизові оболонки ротової порожнини, трахеї, глотки та стравоходу – без патологічних змін;
- шлунок із залишками корму, слизова оболонка без патологічних змін;
- серце не збільшене в об'ємі, передсердя кровонаповнені;

- кров згорнута;
- печінка не збільшена в об'ємі, темно-коричневого кольору, пружної консистенції;
- підшлункова залоза, селезінка та легені – без змін; сечовий міхур порожній, нирки світло коричневого кольору, не збільшені в об'ємі;
- у тонкому та товстому кишечнику щурів патологічних змін не виявлено.

Отже, за результатами токсикологічних досліджень ветеринарного препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) показник LD_{50} розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14-ти діб після введення.

При цьому максимальна введена доза (за абсолютною масою препарату) становила 40000,0 мг/кг маси тіла, що дозволяє віднести препарат Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) до VI класу токсичності – речовини відносно нешкідливі ($LD_{50} > 15000,0$ мг/кг маси тіла), а за ступенем небезпечності до IV класу – малонебезпечних речовин ($LD_{50} > 5000,0$ мг/кг) (Коцюмбас І. Я., 2005).

3.3. Визначення гострої токсичності препарату Целексиб (розчин введення білим мишам.

За введення препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) мишам III–VI дослідних груп (дози 30000,0-45000,0 мг/кг маси тіла) у тварин через 1-2 години реєстрували збудження, часте дихання, відмову від корму та води, збільшення актів сечовипускання та дефекації. Таку симптоматику виявляли протягом двох діб після введення, далі до (4-6)-ої доби клінічний стан тварин поступово відновлювався і не відрізнявся від такого в контролі, характерною в даний період для цих груп тварин була спрага. Загибелі мишей у цих групах також не спостерігали.

На 15-ту добу після введення проводили евтаназію мишей з використанням хлороформного наркозу та патологоанатомічний розтин. Під час зовнішнього огляду трупів дослідних тварин не спостерігали витікань з ротової, носової порожнини та ануса.

На розтині у мишей реєстрували:

- трахеї, стравоходу, слизові оболонки ротової порожнини та глотки – без патологічних змін;
- шлунок із залишками корму, слизова оболонка без патологічних змін;
- серце не збільшене в об'ємі, передсердя кровонаповнені;
- кров згорнута;
- печінка не збільшена в об'ємі, темно-коричневого кольору, пружної консистенції;
- підшлункова залоза, селезінка та легені – без змін; сечовий міхур порожній, нирки світло коричневого кольору, не збільшені в об'ємі;
- у тонкому та товстому кишечнику мишей патологічних змін не виявлено.

Отже, за результатами токсикологічних досліджень ветеринарного препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) показник LD_{50} розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14-ти діб після введення.

При цьому максимальна введена доза (за абсолютною масою препарату) становила 45000,0 мг/кг маси тіла, що дозволяє віднести препарат Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) до VI класу токсичності – речовини відносно нешкідливі ($LD_{50} > 15000,0$ мг/кг маси тіла), а за ступенем небезпечності до IV класу – малонебезпечних речовин ($LD_{50} > 5000,0$ мг/кг) (Коцюмбас І. Я., 2005).

3.4. Визначення гострої токсичності препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) за одноразового підшкірного введення білим щурам

У досліді щурам підшкірно вводили препарат Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) у дозах 5000,0; 10000,0; 15000,0; 20000,0 і 25000,0 мг/кг маси тіла. Клінічні спостереження показали, що підшкірне введення препарату щурам I–V дослідних груп не викликало картини гострого отруєння. Щури були рухливі, добре реагували на зовнішні подразники, активно споживали корм та воду. Виключення складало незначне 25000,0 мг/кг маси тіла. Загибелі щурів у цих групах не спостерігали. У місці введення препарату не відмічали болючості та припухлості протягом терміну досліджень, кулька після введення препарату зникала протягом доби після введення.

На 15-ту добу після введення проводили діагностичний забій щурів та патологоанатомічний розтин. Під час зовнішнього огляду трупів дослідних тварин встановлено, що шерсть була блискуча; витікань з ротової, носової порожнини та ануса не спостерігали. На розтині у щурів: не реєстрували змін слизових оболонок ротової порожнини, трахеї, глотки та стравоходу; у місці введення не виявляли запалення підшкірної клітковини та гематом; шлунок із залишками корму, без ознак запалення; серце не збільшене в об'ємі, передсердя не кровонаповнені; кров згорнута; печінка не збільшена в об'ємі, темно коричневого кольору, пружної консистенції; легені, селезінка, підшлункова залоза та нирки – без змін; у тонкому та товстому кишечнику не встановлено патологічних відхилень у порівнянні з нормою.

Отже, за результатами токсикологічних досліджень препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) показник LD₅₀ розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14-ти діб після введення. При цьому максимальна введена

підшкірно доза препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) (за абсолютною масою препарату) становила 25000,0 мг/кг маси тіла, що дозволяє за токсичністю віднести препарат до VI класу – відносно нешкідливих речовин ($LD_{50Subcut} > 4500$ мг/кг маси тіла) (Коцюмбас І. Я., 2005).

3.5. Визначення гострої токсичності препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) за одноразового підшкірного введення білим мишам

Отже, за результатами токсикологічних досліджень препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) показник LD_{50} розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14-ти діб після введення. При цьому максимальна введена підшкірно доза препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) (за абсолютною масою препарату) становила 40000,0 мг/кг маси тіла, що дозволяє за токсичністю віднести препарат до VI класу – відносно нешкідливих речовин ($LD_{50Subcut} >4500$ мг/кг маси тіла) (Коцюмбас І. Я., 2005).

3.6. Визначення токсичності препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) при повторних уведеннях на білих щурах (підгостра токсичність при підшкірному введенні).

Результати дослідження рівня гематологічних показників у крові щурів у динаміці перорального введення препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) при повторних уведеннях на білих щурах (підгостра токсичність при підшкірному введенні).

Таблиця 3.1.

Рівень гематологічних показників периферичної крові щурів за підгострого підшкірного введення препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) при повторних уведеннях на білих щурах (підгостра токсичність при підшкірному введенні).

Дослідні групи	Термін досліджень, доба			
	до введення	6-та доба	11-та доба	Через 7 діб після припинення введення
Загальний гемоглобін (HGB), г/дм³				
Контроль	103,42±1,24			
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
25,0 мл/кг				
Еритроцити (RBC), 10¹²/дм³				
Контроль	8,52±0,31			
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
25,0 мл/кг				
Лейкоцити (WBC), 10⁹/дм³				
Контроль	10,31±0,27			
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
25,0 мл/кг				
Гематокрит (HCT), %				
Контроль	38,26±0,74			
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
25,0 мл/кг				

З результатів, наведених у таблиці, виявляється, що під час визначення гематологічних показників крові щурів I дослідної групи (терапевтична доза наведено в таблиці 3.1.

препарату) не встановлено вірогідних відхилень відносно контрольної групи протягом усього терміну досліджень, тоді як за введення препарату в дозі 12,5 мл/кг маси тіла на 6-ту і 11-ту добу досліду реєстрували тенденцію до зниження вмісту загального гемоглобіну, еритроцитів та показника гематокриту, а за введення у дозі 25,0 мл/кг маси тіла – тенденцію до зниження вмісту загального гемоглобіну, вірогідне ($p < 0,05$) зниження кількості еритроцитів на 9,9 і 18,0 % та показника гематокриту – на 4,4 і 5,2 %; через 7 діб після припинення введення дані показники не мали вірогідних відмінностей від контрольної групи, що свідчить про відсутність гемотоксичного впливу препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) в умовах під гострого досліду.

Результати дослідження рівня показників функціонального стану печінки та нирок у сироватці крові щурів у динаміці перорального введення

п
р
е
д
а
л

Таблиця 3.2.

Динаміка рівня основних біохімічних показників сироватки крові щурів за підгострого підшкірного введення препарату Целексиб (розчин

Дослідні групи	Термін досліджень, доба			
	до введення	6-та доба	11-та доба	Через 14 діб після припинення введення
Активність АЛТ, мкмоль/год×см³				
Контроль	3,57±0,09			
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
25,0 мл/кг				
Активність АСТ, мкмоль/год×см³				
Контроль				
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
25,0 мл/кг				

с
б
о
с
у

Загальні протеїни, г/дм ³				
Контроль	65,28±1,38			
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
25,0 мл/кг				
Глюкоза, ммоль/дм ³				
Контроль	6,28±0,18	6,39±0,17	6,25±0,14	6,23±0,11
2,5 мл/кг	6,34±0,11	6,45±0,14	6,31±0,13	6,27±0,16
1	2	3	4	5
12,5 мл/кг	6,23±0,13	6,46±0,15	6,33±0,17	6,20±0,12
25,0 мл/кг	6,31±0,17	6,52±0,12	6,47±0,11	6,26±0,15
Загальний холестерол, ммоль/дм ³				
Контроль	3,38±0,11	3,42±0,10	3,36±0,14	3,30±0,12
2,5 мл/кг	3,43±0,10	3,47±0,13	3,32±0,11	3,28±0,09
12,5 мл/кг	3,32±0,09	3,39±0,14	3,30±0,12	3,31±0,13
25,0 мл/кг	3,40±0,13	3,44±0,09	3,29±0,10	3,30±0,10
Креатинін, мкмоль/дм ³				
Контроль	94,36±1,54			
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
25,0 мл/кг				
Сечовина, ммоль/дм ³				
Контроль	5,29±0,15			
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
25,0 мл/кг				

З даних таблиці видно, що значення біохімічних показників крові щурів контрольної, I і II дослідної групи (2,5 і 12,5 мл/кг маси тіла), в динаміці введення та через 7 діб після припинення задавання препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) вірогідно не відрізнялися між собою, тоді як за підшкірного введення препарату в дозі 25,0 мл/кг маси тіла у сироватці крові щурів на 6-ту і 11-ту добу дослідження спостерігали підвищення активності АСТ та концентрації сечовини на 5,4 і 6,5 % та 7,9 і 10,1 % відповідно відносно контролю ($p < 0,05$), а також тенденції до підвищення концентрації загальних протеїнів та креатиніну через 10 діб введення препарату. Слід зазначити, що вищевказані показники не

відрізнялися від контрольних через 7 діб після припинення введення препарату.

Отже, можна зробити висновок, що підгостре підшкірне введення

в

е

т

е

р

и

н

а

р

н

о

г

о

п

р

е

п

а

р

а

т

у

Ц

е

л

е

к

с

3.7. Визначення токсичності препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) при повторних уведеннях на білих мишах (підгостра токсичність при підшкірному введенні)

Підгостру токсичність препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного

з

а

с П

р

е Для досліду було сформовано одну контрольну та три дослідні групи по 32 миші у кожній (n=32): I група — тварини, яким підшкірно вводили стерильну воду для ін'єкцій (контрольна група), II група — тварини, яким вводили дослідний препарат у дозі 2,5 мл/кг маси тіла (терапевтична, згідно аистівки вкладки), III група – 12,5 мл/кг маси тіла (п'ятикратна) та IV група – 15,0 мл/кг маси тіла (десятикратна) відповідно.

н Відбір проб крові для гематологічних та біохімічних досліджень

Проводили за умов 28-го лабораторного вивчення рілик мишах-саморформую (24.03.2010) до введення препарату, на 6-ту, 11-ту і 18-ту добу експерименту відповідно.

е Оцінювання функціонального стану організму дослідних тварин у порівнянні з контрольними впродовж експерименту проводили за визначенням клініко-біохімічних показників у крові за загальноприйнятими методиками.

У стабілізованій крові тварин визначали: кількість еритроцитів, лейкоцитів, рівень гематокриту та вміст загального гемоглобіну; у сироватці крові – активність індикаторних ензимів аланінамінотрансферази (АЛТ) та аспаратамінотрансферази (АСТ), рівень загальних протеїнів, глюкози, загального холестеролу, сечовини та креатиніну відповідно.

з Отримані експериментальні результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням комп'ютерного пакета програм

и

н

StatPlus 5.9.8.5. Дані представляли у вигляді значень середніх зі відхиленням стандартним за рівнем довірчої ймовірності 95,00 %, вірогідність отриманих результатів оцінювали за стандартним критерієм Фішера.

У динаміці підгострого експерименту (щоденно) у мишей вивчали інтегральні показники (поведінка тварин, зовнішній вигляд, реакції на зовнішні подразники, споживання води та корму, а також показники, які характеризують функції органів і систем, з використанням загально прийнятих методів.

Установлено, що під час дослідження загального клінічного стану мишей дослідних груп суттєвих змін у поведінці та зовнішньому вигляді не виявлено, порівняно з контролем.

Протягом всього терміну спостереження (18 діб) миші мали задовільний апетит, були активними, добре реагували на світлові та звукові подразники, у них зберігалась рефлекторна збудливість; порушення дихання, сечовиділення та дефекації не відмічали. Виключення складало незначне 25,0 мл/кг маси тіла, яке зникало протягом доби після введення.

Результати дослідження рівня гематологічних показників у крові мишей у динаміці перорального введення препарату Целексиб (розчин для

і
н З результатів, наведених у таблиці, виявляється, що під час визначення гематологічних показників крові мишей I дослідної групи (терапевтична доза препарату) не встановлено вірогідних відхилень відносно контрольної групи протягом усього терміну досліджень, тоді як за введення препарату в дозі 2,5 мл/кг маси тіла на 6-ту і 11-ту добу досліду реєстрували тенденцію до зниження вмісту загального гемоглобіну, еритроцитів та показника гематокриту, а за введення у дозі 25,0 мл/кг маси тіла – тенденцію до зниження вмісту загального гемоглобіну, вірогідне ($p < 0,05$) зниження вільності еритроцитів на 8,8 і 16,0 % та показника гематокриту – на 5,1 і 6,1 %; через 7 діб після припинення введення дані показники не мали

о

вірогідних відмінностей від контрольної групи, що свідчить про відсутність гемотоксичного впливу препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) в умовах під гострого дослідю.

Таблиця 3.3.

Рівень гематологічних показників периферичної крові мишей за підгострого підшкірного введення препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) в умовах під гострого дослідю.

Дослідні групи	Термін досліджень, доба			
	до введення	6-та доба	11-та доба	Через 7 діб після припинення введення
Загальний гемоглобін (HGB), г/дм³				
Контроль	144,53±2,35			
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
25,0 мл/кг				
Еритроцити (RBC), 10¹²/дм³				
Контроль	9,63±0,29			
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
25,0 мл/кг				
Лейкоцити (WBC), 10⁹/дм³				
Контроль	8,42±0,24			
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
25,0 мл/кг				
Гематокрит (HCT), %				
Контроль	42,37±0,85			
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
25,0 мл/кг				

Результати дослідження рівня показників функціонального стану печінки та нирок у сироватці крові мишей у динаміці перорального введення препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) в умовах під гострого дослідю.

З даних таблиці видно, що значення біохімічних показників крові мишей контрольної, I і II дослідної групи (2,5 і 12,5 мл/кг маси тіла), в динаміці введення та через 7 діб після припинення застосування препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) в умовах під гострого дослідю не відрізняються від контрольної групи (р > 0,05).

Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) вірогідно не відрізнялися між собою, тоді як за підшкірного введення препарату в дозі 25,0 мл/кг маси тіла у сироватці крові мишей на 6-ту і 11-ту добу дослідів спостерігали підвищення активності АСТ та концентрації сечовини на 6,3 і 6,6 % та 5,8 і 10,5 % відповідно відносно контролю ($p < 0,05$), а також тенденції до підвищення концентрації загальних протеїнів та креатиніну на через 10 діб введення препарату. Слід зазначити, що вищевказані показники не відрізнялися від контрольних через 7 діб після припинення введення препарату.

Таблиця 3.4.

Динаміка рівня основних біохімічних показників сироватки крові мишей за підгострого підшкірного введення препарату Целексиб (розчин

Дослідні групи	Термін досліджень, доба			
	до введення	6-та доба	11-та доба	Через 14 діб після припинення введення
Активність АЛТ, мкмоль/год×см³				
Контроль	2,36±0,07			
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
250,0 мл/кг				
Активність АСТ, мкмоль/год×см³				
Контроль				
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
250,0 мл/кг				
Загальні протеїни, г/дм³				
Контроль	62,39±1,57			
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
250,0 мл/кг				
Глюкоза, ммоль/дм³				
Контроль	6,17±0,17	6,28±0,16	6,14±0,13	6,22±0,10

($M \pm m$; $n=8$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

2,5 мл/кг	6,23±0,10	6,34±0,13	6,20±0,12	6,16±0,15
12,5 мл/кг	6,12±0,12	6,35±0,14	6,22±0,16	6,09±0,11
250,0 мл/кг	6,10±0,16	6,41±0,10	6,36±0,14	6,15±0,14
Загальний холестерол, ммоль/дм ³				
Контроль	3,26±0,10	3,31±0,12	3,25±0,15	3,19±0,11
1	2	3	4	5
2,5 мл/кг	3,32±0,11	3,36±0,12	3,21±0,10	3,17±0,10
12,5 мл/кг	3,21±0,10	3,27±0,13	3,19±0,11	3,20±0,12
250,0 мл/кг	3,29±0,11	3,32±0,08	3,28±0,13	3,19±0,09
Креатинін, мкмоль/дм ³				
Контроль	63,47±1,65			
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
250,0 мл/кг				
Сечовина, ммоль/дм ³				
Контроль	5,47±0,14			
2,5 мл/кг				
12,5 мл/кг				
250,0 мл/кг				

Отже, можна зробити висновок, що підгостре підшкірне введення

в
е
т
е
р
и
н
а
р
н
о
г
о

п
р
е

ВИСНОВКИ

1. За перевіреними показниками препарат «Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування)», серії 010122, відповідає вимогам СОП 059 (1).

2. За результатами токсикологічних досліджень ветеринарного препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) за умов одноразового внутрішньошлункового введення самкам білих щурів та самцям білих мишей показник LD_{50} розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14-ти діб після введення. При цьому максимальна введена доза (за абсолютною масою препарату) становила 40000,0 і 450000,0 мг/кг маси тіла відповідно, що дозволяє віднести препарат Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) до VI класу токсичності – речовини відносно нешкідливі ($LD_{50} > 15000,0$ мг/кг маси тіла), а за ступенем небезпечності до IV класу – малонебезпечних речовин ($LD_{50} > 5000,0$ мг/кг).

2. За результатами токсикологічних досліджень ветеринарного препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) за умов одноразового підшкірного введення самкам білих щурів та самцям білих мишей показник LD_{50} розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14-ти діб після введення. При цьому максимальна введена доза (за абсолютною масою препарату) становила 25000,0 і 400000,0 мг/кг маси тіла відповідно, що дозволяє за токсичністю віднести препарат до VI класу – відносно нешкідливих речовин ($LD_{50\text{Subcut}} > 4500$ мг/кг маси тіла).

3. При багаторазовому підшкірному введенні білим щурам препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) за умов підгострого токсикологічного експерименту в дозах 2,5; 12,5 і 25,0 мл/кг маси тіла не встановлено гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин. Проте у крові щурів, яким вводили препарат в дозі 12,5 мл/кг маси тіла на 6-ту і 11-ту добу досліду реєстрували тенденцію до зниження вмісту

загального гемоглобіну, еритроцитів та показника гематокриту, а за введення у дозі 25,0 мл/кг маси тіла – тенденцію до зниження вмісту загального гемоглобіну, вірогідне ($p < 0,05$) зниження кількості еритроцитів на 9,9 і 18,0 % та показника гематокриту – на 4,4 і 5,2 %; а в сироватці крові щурів за підшкірного введення препарату в дозі 25,0 мл/кг маси тіла на 6-ту і 11-ту добу досліду спостерігали підвищення активності АСТ та концентрації сечовини на 5,4 і 6,5 % та 7,9 і 10,1 % відповідно відносно контролю ($p < 0,05$), а також тенденції до підвищення концентрації загальних протеїнів та креатиніну через 10 діб введення препарату, вищевказані показники не відрізнялися від контрольних через 7 діб після припинення введення препарату.

4. При багаторазовому підшкірному введенні білим мишам препарату Целексиб (розчин для ін'єкційного застосування) за умов підгострого токсикологічного експерименту в дозах 2,5; 12,5 і 25,0 мл/кг маси тіла не встановлено гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин. Проте у крові мишей, яким вводили препарат в дозі 12,5 мл/кг маси тіла на 6-ту і 11-ту добу досліду реєстрували тенденцію до зниження вмісту загального гемоглобіну, еритроцитів та показника гематокриту, а за введення у дозі 25,0 мл/кг маси тіла – тенденцію до зниження вмісту загального гемоглобіну, вірогідне ($p < 0,05$) зниження кількості еритроцитів на 8,8 і 16,0 % та показника гематокриту – на 5,1 і 6,1 %; а в сироватці крові мишей за підшкірного введення препарату в дозі 25,0 мл/кг маси тіла на 6-ту і 11-ту добу досліду спостерігали підвищення активності АСТ та концентрації сечовини на 6,3 і 6,6 % та 5,8 і 10,5 % відповідно відносно контролю ($p < 0,05$), а також тенденції до підвищення концентрації загальних протеїнів та креатиніну через 10 діб введення препарату, вищевказані показники не відрізнялися від контрольних через 7 діб після припинення введення препарату.

ЛІТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доп. 3. – Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. 416 с.

2. Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність : навч. посіб. для студ. вищ. фармац. навч. закл. / авт.-уклад.: І. М. Перцев та ін. ; за ред. І. М. Перцева. Харків : Золоті сторінки, 2010. 600 с.

3. Фармацевтична енциклопедія. Вид. 3-тє, доповнене. Київ. Моріон, 2016. 1952 с.

5. Pharmacokinetics of methyl salicylate-2-O- β -D-lactoside, a novel salicylic acid analog isolated from *Gaultheria yunnanensis*, in dogs. Dan Zhang, Xiaowei Ma, Wenyu Xin, Chao Huang, Weiku Zhang, Tiantai Zhang, Guanhua Du. 2013 Dec;27(12):1680-4. doi: 10.1002/bmc.2979. Epub 2013 Jun 24.

6. COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS SALICYLIC ACID, SODIUM SALICYLATE, ALUMINIUM SALICYLATE, BASIC, AND METHYL SALICYLATE. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit 7 Westferry Circus, Canary Wharf, London, E14 4HB, UK Switchboard: (+44-171) 418 8400 Fax: (+44-171) 418 8447 E-Mail: mail@emea.europa.eu <http://www.europa.eu/emea.html> EMEA 2000 Reproduction and/or distribution of this document is authorised for non commercial purposes only provided the EMEA is acknowledged EMEA/MRL/696/99-FINAL November 1999

7. ON THE METABOLISM AND TOXICITY OF METHYL SALICYLATE. Clarke Davison, Paul K. Smith and Ernest F. Zimmerman Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics May 1961, 132 (2) 207-211;

8. THE EFFECT OF SALICYLATES ON THE ELECTROLYTE STRUCTURE OF THE BLOOD PLASMA.1 I. RESPIRATORY ALKALOSIS IN MONKEYS AND DOGS AFTER SODIUM AND METHYL SALICYLATE; THE INFLUENCE OF HYPNOTIC DRUGS AND OF SODIUM BICARBONATE ON SALICYLATE POISONING BY S. RAPOPORT AND GEORGE M. GUEST (From the Children's Hospital Research Foundation and the Department of Pediatrics, College of Medicine, University of Cincinnati, Cincinnati) (Received for publication May 23, 1945).

9. Pharmacokinetics of Salicylic Acid Following Intravenous and Oral Administration of Sodium Salicylate in Sheep. Shashwati Mathurkar, Preet Singh, Kavitha Kongara, and Paul Chambers, He Awa Crescent, Waikanae 5036, New Zealand, School of Veterinary Sciences, College of Sciences, Massey University, Palmerston North 4474, New Zealand. Author to whom correspondence should be addressed. *Animals* 2018, 8(7), 122; <https://doi.org/10.3390/ani8070122>. Received: 13 June 2018 / Revised: 11 July 2018 / Accepted: 16 July 2018 / Published: 18 July 2018.

Коцюмбас І. Я. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів. Львів : Тріада плюс, 2005. С. 134–147.

Западнюк І. В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. К.: Вища школа. 1983. 383 с.

. Каркищенко Н. Н., Грачев С. В. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях. М.: Профиль – 2С, 2010. 358 с.

. Стаття 26 Закону України № 5456-VI від 16.10.2012 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження».

L 358. 1986. P. 1-29.

. Жаров А. В., Иванов И. В., Стрельников А. П. Вскрытие и патоморфологическая диагностика болезней животных. М.: Колос, 2003. 400 с.