

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

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри

*Д.В. Лико*

(підпис)

Д.В. Лико

(ініціали, прізвище)

“ 20 ” червня 2023 року

**Пояснювальна записка**

до кваліфікаційної роботи бакалавра

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

(код і назва)

**на тему: «Переміщення субстанцій для фармацевтичного застосування через митний кордон України та вирішення проблем їх фальсифікації»**

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

(шифр групи)

Джус Софія Леонідівна

(прізвище, ім'я, по батькові)

*Джус*

(підпис)

Керівник доктор ветеринарних наук, професор кафедри екології, географії та туризму РДГУ Сачук Р.М.

(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

*Джус*

(підпис)

**Оцінка за результатами захисту:**

Національна шкала

Кількість балів:

Оцінка: ЄКТС

*Відмінно*

*81*

*A*

Рівне - 2023 року

## ЗМІСТ

<b>ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ТЕРМІНІВ І СКОРОЧЕНЬ</b> .....	6
<b>ВСТУП</b> .....	7
<b>РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ</b> .....	8
1.1. Особливості ввезення в Україну лікарських препаратів і ветеринарних засобів.....	8
1.2. Ввезення на територію України для індивідуального використання лікарських препаратів, які у своєму складі містять психотропні та наркотичні інгредієнти.....	17
1.3. Методи фальсифікації субстанцій (діючих речовин) лікарських засобів.....	19
1.4. Висновок з розділу огляду літератури та розробка пропозицій щодо експериментальних досліджень.....	21
<b>РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ</b> .....	23
<b>РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ</b> .....	25
3.1. Вивчення фальсифікації субстанцій кальцію глюконату .....	25
3.4. Вивчення фальсифікації субстанцій борної кислоти.....	33
3.3. Вивчення фальсифікації субстанцій натрію гідрокарбонату.....	40
<b>ВИСНОВКИ</b> .....	55
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ</b> .....	58
<b>ДОДАТКИ</b> .....	61

## РЕЗЮМЕ

Проведені лабораторні дослідження з визначення показників якості, гострої та підгострої токсичності ветеринарних фармацевтичних субстанцій на білих щурах, білих мишах, кролях, мурчаках та котах.

За результатами визначення параметрів гострої токсичності препарату Кальфодев (розчин для ін'єкцій) у разі одноразового внутрішньошлункового введення  $LD_{50}$  для щурів-самців (за абсолютною масою препарату) складає  $30893,74 \pm 5604,43$  мг/кг маси тіла, що дозволяє за токсичністю віднести його до VI класу – речовин відносно нешкідливих ( $LD_{50} > 15000,0$  мг/кг маси тіла), а за ступенем небезпечності до IV класу – малонебезпечних речовин ( $LD_{50} > 5000,0$  мг/кг маси тіла).

За результатами визначення параметрів гострої токсичності препарату Кальфодев (розчин для ін'єкцій) у разі одноразового підшкірного введення  $LD_{50}$  для щурів-самок (за абсолютною масою препарату) складає  $7645,37 \pm 840,55$  мг/кг, а для мишей-самок  $7459,35 \pm 939,77$  мг на кг живої маси тіла, що відносить його до VI класу – відносно нешкідливих речовин ( $LD_{50Subcut} > 4500,0$  мг/кг маси тіла).

Ветеринарний препарат Кальфодев (розчин для ін'єкцій) при нанесенні на шкіру кролів у дозах від 750,0 до 3000,0 мг/кг маси тіла не проявляє подразливої дії, а за ступенем небезпечності його можна віднести до IV класу – малонебезпечних речовин ( $LD_{50Percut} > 2500,0$  мг/кг маси тіла).

Препарат Кальфодев (розчин для ін'єкцій) не викликає подразнювальної (шкідливої) дії на слизову оболонку ока кролів, про що свідчить відсутність набряку повік протягом усього терміну спостереження, ін'єкція судин та помірні виділення з ока тварин лише протягом першої доби після нанесення.

Підшкірне введення щурам препарату Кальфодев (розчин для ін'єкцій) протягом 3-х діб за умов підгострого токсикологічного експерименту в дозах 0,30; 1,50 і 3,00 мл/кг маси тіла не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин, оскільки гематологічні

та біохімічні показники до та після підшкірного введення препарату за значенням статистично не змінювались. Виняток становили тенденції до підвищення кількості лейкоцитів та ензиматичної активності АЛТ і АСТ на 1- і 3-тю добу за введення препарату в дозі 3,00 мл/кг маси тіла, які зникали через 7 діб після припинення введення препарату.

Підшкірне введення собакам препарату Кальфодев (розчин для ін'єкцій) протягом 3-х діб за умов підгострого токсикологічного експерименту в дозах 0,30; 1,50 і 3,00 мл/кг маси тіла не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм тварин, оскільки гематологічні та біохімічні показники крові собак до та після підшкірного введення препарату за значенням статистично не змінювались. Виняток становила тенденція щодо підвищення кількості еритроцитів та лейкоцитів (через 3 доби введення) та підвищення рівня ензиматичної активності АЛТ і АСТ на 12,6 і 19,9 % ( $p < 0,05$ ) й концентрації сечовини (на 6,7 %) на 3-тю добу за введення препарату в дозі 3,00 мл/кг маси тіла, які зникали через 7 діб після припинення введення препарату.

Досліджено толерантність мурчаків щодо препарату Кальфодев (розчин для ін'єкцій). Установлено, що препарат не чинить негативного впливу на організм та поведінку мурчаків при підшкірному введенні в дозах (0,5-2,0) мл/кг маси тіла, тоді як за введення його в дозах 2,5 і 3,0 мл/кг маси тіла у двох і у всіх тварин з відповідних груп спостерігали незначне пригнічення та припухлість у місці ін'єкції, що зникали протягом першої доби після введення відповідно.

Препарат Кальфодев (розчин для ін'єкцій) за умов підшкірного введення вагітним щурам-самкам у дозах 0,30 та 1,50 мл/кг маси тіла не викликає загибелі та патологічних змін ембріонів, не чинить ембріотоксичної та тератогенної дії, однак за введення препарату в дозі 1,50 мл/кг маси тіла встановлено тенденцію до підвищення рівня загальної, до- та післяімплантаційної летальності ембріонів, тому при застосуванні його вагітним самкам слід суворо дотримуватися дозування.

Препарат Кальфодев (розчин для ін'єкцій) за умов 5-добового підшкірного введення білим мишам у дозах 0,30 і 1,50 мл/кг маси тіла не проявляє канцерогенної дії (під час мікроскопічних досліджень частка поліхроматофільних еритроцитів не мала вірогідних відхилень між собою та становила (0,133-0,150) %, що входить в межу норми (до 0,2 %).

**Робту викладено українською мовою, на 65 с., містить 18 таблиць, 3 рисунки, 11 літературних посилань.**

***Ключові слова:*** СУБСТАНЦІЇ, ЯКІСТЬ, МИШІ, МУРЧАКИ, ЩУРИ, КРОЛІ, СОБАКИ, ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ, ПІДГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ, ДОЗА, ЛЕТАЛЬНІСТЬ, ТОЛЕРАНТНІСТЬ, КАНЦЕРОГЕННІСТЬ.

## **ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ТЕРМІНІВ І СКОРОЧЕНЬ**

АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт;

ЛЗ – лікарський засіб;

ФУ – фармакопея України;

СОП – стандартна операційна процедура;

НПЗП – нестероїдний протизапальний препарат.

## ВСТУП

Для забезпечення цільового призначення якості субстанції ветеринарного лікарського засобу, перш за все, необхідно, щоб був окреслений перелік критеріїв якості для розробленого препарату. На основі цих критеріїв в подальшому можуть бути визначені потенційні критичні показники якості, при ввезенні субстанції через митний кордон України та в подальшому при виробництві лікарського засобу. Загальний перелік критеріїв якості включає обґрунтовані, нормовані фізичні, хімічні та фармакотехнологічні та показники. Згідно з діючим виданням Державної Фармакопеї України (ДФУ), ввезена на територію України субстанція (діюча речовина) лікарського засобу повинна відповідати вимогам загальної статті «Порошок (субстанція) у мішках поліетиленових для виробництва стерильних лікарських форм». Нормовані показники якості діючої речовини ветеринарного лікарського засобу, у вигляді порошку, наведені у відповідних пунктах і статтях Державної фармакопеї України (ФУ) [1, 2, 3, 4]. З врахуванням вимог діючого видання Державної ФУ, Наказу № 133 Державного комітету ветеринарної медицини України від 14.07.2008 р. та нормативних актів і документів, визначено основні показники критеріїв прийнятності та якості, які включено до стандартної операційної процедури (СОП) або специфікації для проходження дослідження контролю якості порошоків на основі кальцію глюконату, борної кислоти та натрію гідрокарбонату, а саме: опис, ідентифікація, упаковка субстанції, зберігання, термін придатності. Для характеристики та визначення якості препарату, крім фізико-хімічних випробувань, важливим залишається контроль пакувальних матеріалів, призначених для його зберігання.

Наше дослідження стосується розробки підходів до лабораторного контролю на ТОВ «ДЕВІЕ» для забезпечення якості субстанцій (діючих речовин) на прикладі кальцію глюконату, кальцію гліцерофосфату та борної кислоти.

Мета дослідження – розробка характеристики готових субстанцій, ввезених на територію України, методик контролю якості активної речовини та допоміжних речовин ін'єкційного лікарського засобу, на основі кальцію глюконату, борної кислоти та натрію гідрокарбонату.

**Завдання роботи:** провести дослідження показників якості субстанцій кальцію глюконату, борної кислоти та натрію гідрокарбонату; провести токсикологічні (доклінічні) дослідження субстанцій кальцію глюконату, борної кислоти та натрію гідрокарбонату.

*Об'єкт дослідження* – оцінювання безпечності субстанцій фармацевтичного призначення, ввезених на територію України.

*Предмет дослідження* – фармацевтичний ринок субстанцій фармацевтичного призначення; параметри якості та токсичності субстанцій.

*Методи дослідження:* хімічні (показники якості субстанцій), токсикологічні (доклінічні дослідження препарату) та статистичні (вірогідність отриманих результатів).



## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Особливості ввезення в Україну лікарських препаратів і ветеринарних засобів

При ввезенні в Україну лікарських препаратів і ветеринарних засобів керуємося Нормативною базою.

Підприємство чи фізична особа повинна одержати ліцензію для ввезення в Україну ветеринарних препаратів і лікарських засобів.

Контроль за ввезенням на територію України ветеринарних лікарських засобів проводить Держпродспоживслужба.

За підсумками результатів закупівельної процедури може проводитися ввезення лікарських препаратів, які підлягають закупівлі й успішно пройшли державну реєстрацію.

Забороняється ввезення незареєстрованих ветеринарних лікарських препаратів.

Ввезення громадянами на митну територію України незареєстрованих лікарських засобів забороняється регламентується законами України «Про лікарські засоби» та «Про ветеринарну медицину».

Ліцензійні умови провадження господарської діяльності з виробництва ветеринарних лікарських засобів, роздрібної та оптової торгівлі лікарськими препаратами, імпорту ветеринарних лікарських засобів (крім субстанцій - активних фармацевтичних інгредієнтів), затверджені постановою КМУ від 30.11.2016 р. № 929.

Закон України «Про внесення змін до Закону України «Про лікарські засоби» та «Про ветеринарну медицину» щодо обмеження обігу лікарських засобів, виробництво та реалізація яких розташовано на території Російської Федерації або Республіки Білорусь, а також щодо вивезення ветеринарних лікарських препаратів з України» від 22 травня 2022 року за реєстраційним номером № 2271-IX [<https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/123/96->

%D0%B2%D1%80#Text; zakononline.com.ua/documents/show/152242\_\_\_59257  
2].

Порядок проведення доклінічних і клінічних випробувань лікарських засобів та повної експертизи звітів клінічних випробувань, затверджений наказом Міністерства охорони здоров'я України від 23.09.2009 р. за реєстраційним номером 690, зареєстрованого в Міністер. юстиції України 29.10.2009 р. за реєстраційним номером 1010/17026 та постановою Кабміну України від 06.06.2007 р. за реєстраційним номером 807 «Про затвердження Положення про Державну фармакологічну комісію ветеринарної медицини»

З 24.02.2022 року, у відповідність до Закону України «Про правовий режим воєнного стану», в нашій країні впроваджено режим військового стану.

Відповідно до наказу Міністерства охорони здоров'я від 13 березня 2022 р. за реєстраційним номером 481 до скасування та припинення військового стану в Україні призупинено дію наказу Міністерства охорони здоров'я нашої країни від 26.04.2011 р. реєстраційний номер 237 «Про затвердження Порядку ввезення на територію України незареєстрованих лікарських препаратів, реагентів, стандартних зразків».

Лікарський препарат – комбінація речовин або будь-яка речовина (декількох АФІ або одного та допоміжних речовин), що має властивості та призначена для профілактики або лікування захворювань у людей, чи будь-яка речовина або комбінація речовин (декількох або одного АФІ та допоміжних речовин), яка може бути застосована для попередження вагітності, корекції, відновлення чи зміни фізіологічних функцій у людини у зв'язку здійснення імунологічної, фармакологічної або метаболічної дії або для підтвердження медичного діагнозу (стаття № 2 державного Закону України «Про лікарські засоби»).

На територію нашої України можна ввозитися лікарські засоби, які пройшли державну реєстрацію в Україні, за наявності реєстраційного посвідчення, в окремих випадках сертифіката якості лікарського засобу

відповідної серії, що видається лабораторією якості підприємства-виробника, та ліцензії на імпорт засобів лікарських (окрім АФІ), що може видаватися імпортеру (підприємство-виробник або особа, що представляє ліцензованого виробника лікарських препаратів на території нашої України), у порядку, передбаченому діючим законодавством. Ліцензія повинна містити додаток у якому наводяться лікарські препарати, які дозволені до імпорту підприємства-ліцензіату, а також визначені особливі умови провадження господарської діяльності.

Підставою для отримання дозвільних документів на ліцензію щодо імпорту лікарських препаратів є:

- наявність відповідних виробничих діляниць, відповідно матеріально-технічної бази;
- кваліфікованого персоналу, який має необхідну освіту та кваліфікацію;
- бази щодо здійснення контролю якості лікарських препаратів, що будуть завозитися на територію України.

Відповідність матеріальної та технічної бази, освітньої кваліфікації персоналу, а також бази щодо контролю за якістю та безпечністю лікарських препаратів, що будуть завозитися на українську територію, заявленим характеристикам і встановленим вимогам та у документах, які подав заявник для отримання ліцензії підлягає перевірці щодо видачі ліцензії з певними термінами, які передбачають для видачі дозвільного документа, за місцем провадження виробничої діяльності органом ліцензування у певному порядку, який визначає центральний орган влади виконавчої у напрямку охорони здоров'я населення. Термін придатності (стабільність) лікарських препаратів, що ввозяться на українську територію, має бути не менше половини вказаного виробником терміну, за умови, якщо виробник вказав термін менше 12 місяців, або не менш як 6 місяців, за умови, якщо підприємство-виробник визначило термін придатності більше 1 року (стаття номер 17 Закону України «Про лікарські засоби»).

Як має проводитися контроль якості за ввезенням на українську територію лікарських препаратів.

Контроль якості за ввезенням на митну українську територію лікарських препаратів виконується центральним органом влади виконавчої, що виконує державну політику у сфері контролю безпеки та якості лікарських засобів. Усі лікарські препарати, що завозяться на митну територію нашої держави з метою їх подальшої торгівлі (реалізації) або застосуванні у виробництві готових лікарських препаратів, підлягають контролю якості у державних лабораторіях.

Особи, які порушують законодавство про лікарські препарати, несуть адміністративну, дисциплінарну, кримінальну або цивільно-правову відповідальність відповідно до законодавства.

На період дії військового стану в нашій державі Кабмін України за підтриманням центрального органу влади виконавчої, що реалізує та забезпечує формування державної політики у сфері охорони здоров'я, може зупинити (тимчасово) експорт лікарських препаратів у разі незабезпечення певних потреб системи охорони здоров'я України в певних лікарських препаратах у повному обсязі (частина II статті за номером 18 Закону України «Про лікарські засоби» діє до завершення 3-ох місячного терміну після скасування чи припинення військового стану).

Лікарські засоби, що ввозяться, підлягають закупівлі коли пройдений етап закупівельної процедури.

На українську територію можуть ввозитися лікарські засоби які пройшли державну реєстрацію в Україні, які можуть закуповуватися за підсумками процедури закупівлі, проведеної уповноваженою організацією, яка проводить закупівлі, тільки на виконання договору щодо закупівлі між органом виконавчої влади (центральним) України, що забезпечує формування та реалізує державну політику у сфері охорони здоров'я, та відповідним спеціалізованим підприємством, яке здійснює закупівлі, за наявності

відповідного сертифіката якості серії лікарського препарату, що видається підприємством-виробником.

Щодо ввезення незареєстрованих лікарських препаратів.

Лікарські засоби, які незареєстровані – лікарські препарати (активнодіючі субстанції у формі преміксу, пелет, грануляту тощо, препарати порівняння (зразки плацебо), референтні препарати, що не пройшли етап державної реєстрації в нашій країні відповідно до діючого законодавства.

Лікарські засоби, які незареєстровані можуть переміщатися на митну територію нашої України для:

- транзиту, тобто переміщення через територію нашої держави або щоб помістити їх у митного склад, що передбачає митний режим з подальшим реекспортом у певному порядку, визначеним Миткодексом України. При цьому можна ввозити на українську митну територію для переміщення у митний режим спеціального митного складу з подальшою реекспортною операцією лише тих лікарських препаратів, що пройшли реєстрацію в країні виробника, супроводжуються відповідним реєстраційним посвідченням і номерним сертифікатом якості та ввезення яких на українську митну територію не суперечить вимогам і положенням Конвенції Ради Європи про підробку медичної продукції та подібні незаконні злочини, що загрожують охороні здоров'я населення. Реекспортна операція таких лікарських препаратів повинна бути здійснена не пізніше ніж за 6 місяців до закінчення терміну їх придатності;

- проведення токсикологічних досліджень нової фармацевтичної розробки і здійснення клінічних випробувань;

- державна реєстрація лікарських препаратів в Україні (зразки препаратів у лікарських препаративних формах);

- рекламація на виставках, конференціях, ярмарках тощо без права реалізації;

- без права реалізації, медичного забезпечення підрозділів збройних сил інших держав, які згідно до закону допущені на українську територію;

- лікування орфанних (рідкісних) захворювань за рішенням органу виконавчої влади центрального, що забезпечує дотримання державної політики у сфері охорони здоров'я населення. Ця документація стосується лише лікарських препаратів, розроблених виключно для лікування орфанних (рідкісних) захворювань, які в затвердженому порядку допущені до використання на території США або держав – членів ЄС (Європейського Союзу), незалежно від того, чи пройшли вони реєстрацію як лікарські препарати компетентними органами США або ЄС.

- особистого використання особами;

- постачання за результатами тендерної закупівлі, проведеної особою, яка має право на здійснення закупівлю у сфері охорони здоров'я населення, для реалізації програм та виконання централізованих комплексних заходів з охорони здоров'я за державні, або закупівлі, проведеної із залученням компетентної особи, яка має право здійснювати закупівлю у сфері охорони здоров'я, за місцеві кошти, за умови наявності нижченаведених обставин:

- в Україні немає ліцензованих альтернативних засобів для лікування та/або профілактики певних захворювань (відсутні лікарські засоби, які не мають реєстрації в Україні із відповідним ексципієнтом – діючою речовиною);

- потреба у таких засобах в Україні є обмеженою певною мірою, тобто лікарський препарат передбачений призначають незначній кількості пацієнтів;

- відповідні лікарські препарати в визначеному порядку дозволяються до застосування на території з наступних країн: США (Сполучені Штати Америки), Австралія, Швейцарська Конфедерація, Канада, Японія або за централізованою процедурою у країнах – членах ЄС та використовуються в одній із вказаних країн;

- розробки та реалізації програм розширеного доступу хворих до лікарських засобів, які незареєстровані, погоджених центральним органом діючої влади, що реалізує та забезпечує формування державної політики у сфері охорони населення здоров'я;

- розробки та реалізації програм доступу суб'єктів та уповноважених осіб дослідження (пацієнтів) до випробувального лікарського препарату після завершення клінічних випробувань, затверджених компетентним органом влади, що забезпечує реалізацію та формування державної політики у сфері охорони здоров'я (частина 6 статті за номером 17 Закону України «Про лікарські засоби»).

У випадках стихійного лиха, епідемічного захворювання, катастроф, тощо за окремим рішенням Мінохорони здоров'я України дозволяється ввезення в Україні лікарських засобів які незареєстровані, зарубіжних країн за наявності повного пакета документів, що підтверджують їх використання та реєстрацію в цих країнах.

Також, за спеціальним окремим рішенням Мінохорони здоров'я України, дозволяється завозити лікарські засоби іноземних держав, які незареєстровані в Україні, з метою медичного застосування (забезпечення) військовослужбовців та осіб начальницького, рядового складу, які виконують спецзавдання під час виконання операції антитерористичної, забезпечення національної безпеки і оборони, здійснення заходів із стримування та відсічі збройної агресії Російської Федерації у Луганській, Запорізької та Донецькій областях, під час дії особливого періоду, надзвичайного стану за наявності повного пакета документів, що підтверджують використання та реєстрацію лікарських препаратів у таких державах.

Незареєстровані лікарські препарати, які ввозяться на українську територію з метою поставок за результатами тендерної закупівлі, проведеної уповноваженою особою на здійснення відповідних закупівель у сфері охорони здоров'я, для здійснення централізованих заходів і виконання програм з охорони здоров'я за державні кошти, або закупівлі, яку проводить залучена особа, уповноважена на проведення закупівель у сфері охорони здоров'я, за місцеві кошти, постачаються безоплатно структурним підрозділам з питань охорони здоров'я обласних, Київської та міських державних адміністрацій або підприємствами, які мають ліцензію на

провадження виробничої господарської діяльності з медичної практики, та можуть застосовуватися в медичній практиці. А орган виконавчої влади центральний, що реалізує державну політику та забезпечує формування у сфері охорони здоров'я, відповідає за ефективність та безпеку і здійснює фармакологічний нагляд в Україні лікарських засобів, які незареєстровані, ввезених на територію України та введених в обіг за офіційною процедурою закупівлі, проведеною уповноваженою особою на здійснення закупівель у сфері охорони здоров'я населення.

Завезення громадянами на українську митну територію лікарських засобів, які не зареєстровані.

Митне оформлення лікарських засобів, які не зареєстровані та призначені для особистого використання особами, які належать до власних речей осіб (переміщуються несупроводжуваному або супроводжуваному багажі, в ручній поклажі та/або в громадянина), проводяться без отримання митними органами офіційного листа-повідомлення Мінохорони здоров'я України щодо можливості завезення на українську митну територію лікарських засобів, які незареєстровані, реагентів, стандартних зразків або певного електронного повідомлення.

Отже, ввезення незареєстрованих лікарських препаратів у Україну, призначених для проведення доклінічних і клінічних досліджень, здійснюється за наявності рішення Мінохорони здоров'я нашої України про проведення доклінічних і клінічних випробувань, прийнятого у відповідності до визначеного Порядку проведення доклінічних і клінічних досліджень лікарських препаратів та експертизи звітів доклінічних і клінічних випробувань, затвердженого відповідним наказом Мінохорони здоров'я України від 23.09.2009 р. за номером 690, зареєстрованого в Мінюсту України 29.10.2009 р. за відповідним номером 1010/17026 (у редакції наказу Мінохорони здоров'я України 12.07.2012 р. за номером 523), яким дозволяється проведення доклінічних і клінічних випробувань препаратів лікарських [[zakon.rada.gov.ua/laws/show/123/96-%D0%B2%D1%80#Text](http://zakon.rada.gov.ua/laws/show/123/96-%D0%B2%D1%80#Text)].



## **1.2. Ввезення на територію України для індивідуального використання лікарських препаратів, які у своєму складі містять психотропні та наркотичні інгредієнти**

Відповідно до пункту 19 частини 1 статті за реєстраційним номером 370 Митного кодексу України від 13.03.2012 р. за номером 4495-VI із доповненнями та змінами до речей особистих відносять, зокрема, лікарські препарати, що пересилаються (переміщуються) через кордон митний України в обсягах і порядку, визначених Кабміном.

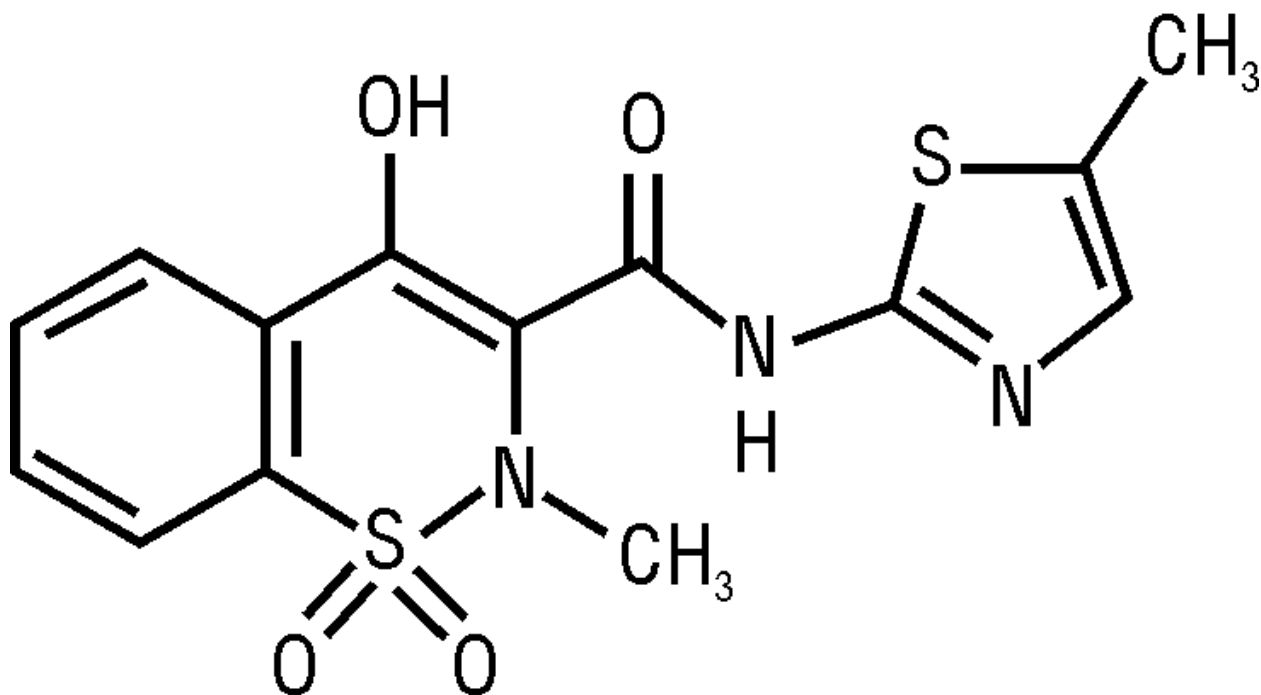
Порядок та обсяги ввезення фізичними або юридичними особами на митну територію нашої України ветеринарних лікарських і медичних засобів та спецдитячого харчування визначені постановою Кабміну України від 23.05.2012 р. згідно реєстраційного номера 458 «Про порядок та обсяги ввезення громадянами на українську митну територію лікарських засобів та спецдитячого харчування», згідно з першим пунктом якої, громадяни мають право ввозити на українську митну територію лікарські препарати, які транспортуються в поклажі ручній та/або в несупроводжуваному або супроводжуваному багажі громадянина, в певних обсягах: у кількості, що не буде перевищувати 5 упаковок кожного певного найменування на 1 особу (крім лікарських препаратів, що містять психотропні чи наркотичні діючі речовини); у певній кількості, що не буде перевищувати зазначену в наявному в людини номерному рецепті на такий лікарський препарат, виданому на ім'я цієї людини та засвідченому лікарською печаткою та/або державного підприємства охорони здоров'я. Водночас відповідно до абзацу 5 статті 26 Закону України від 15.02.1995 р. № 60/95-ВР «Про психотропні речовини, наркотичні засоби та прекурсори» пересилання психотропних речовин, наркотичних засобів і прекурсорів у поштовими відділеннями (враховуючи міжнародні) відправленнях суворо забороняється [<https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/146-97-%D0%BF#Text>].

Отже, згідно діючого законодавства особи можуть ввозити на митну українську територію лікарські препарати, що містять психотропні чи наркотичні речовини, які транспортуються в ручній поклажі та/або в несупроводжуваному або супроводжуваному багажі особи, у встановленій кількості, що не перевищує зазначену в наявному в людини номерному рецепті на такий препарат, виданому на прізвище цієї людини та засвідченому лікарською печаткою та/або підприємства охорони здоров'я.

### 1.3. Методи фальсифікації субстанцій (діючих речовин) лікарських засобів

На прикладі одного з препаратів розглянемо методи фальсифікації субстанції мелоксикаму.

Відповідно до реєстраційного номеру хімічних сполук CAS 71125-38-7  $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$  – мелоксикам.



USPDDN: 4-гідрокси-2-метил-N-(5-метил-2-тиазолил)-2H-1,2-бензотиазин-3-карбоксамид 1,1-диоксид. NLM: 2H-1,2-бензотиазин-3-карбоксамид, 4-гідрокси-2-метил-N-(5-метилтиазолил)-, 1,1-диоксид. Mm = 351,41 Да. Точка плавлення — 254 °С; pKa = 4,08; log P (октанол-вода) = 3,43; розчинність в воді — 7,15 мг/л при температурі 25 °С.

Мелоксикам – це протизапальний нестероїдний препарат (НПЗП) класу енолієвої кислоти. Механізм дії всіх нестероїдних засобів пов'язаний із гальмуванням ферментативної активності циклооксигенази-2 (ЦОГ-2), яка бере участь у біосинтезі простагландинів та формуванні стійкого болювого синдрому. Мелоксикам належить до препаратів, які мають помірну селективність до ЦОГ-2, оскільки він меншою мірою, ніж гальмування ЦОГ-

2, інгібує і ЦОГ-1, що бере участь у синтезі простагландину [16]. Поряд з інгібуванням активності та експресії ЦОГ-2, мелоксикам має й ЦОГ-незалежні ефекти, що в ряді випадків є додатковим аргументом на користь його застосування. Нестероїдний препарат у концентрації терапевтичній не збільшує синтез прозапальних цитокінів (ІЛ-1) інтерлейкіну в культурі хондроцитів [17–20], зменшує активність колагенази, індукованої ІЛ-1, понижує рівень експресії ММП-1, зменшує швидкість реакції процесів розщеплення протеогліканів суглобового хряща, але не впливає на активність ТІМП і їх біосинтез [20], підвищує синтез матриксних компонентів хряща, протеогліканів в експлантаті остеоартрозного хряща, отриманого від хворих з різним ступенем тяжкості дегенеративного захворювання, і гальмує апоптоз хондроцитів [21]. В іншому дослідженні на культурах хряща, тканини суглобового меніска і синовіальної оболонки, взятих при пункції з суглоба, був продемонстрований позитивний ефект мелоксикаму щодо зниження рівня експресії ферментів, які призводять до деградації міжклітинного матриксу хряща – ММП-2 і -9 – на ранніх стадіях остеоартрозу колінного суглоба [22]. Крім того, виявилось що мелоксикам, як і метилпреднізолон, здатний не тільки пригнічувати продукцію ММП-2 і -9, а й знижувати секрецію урокіназного типу. Тому мелоксикам позитивно впливає на суглобовий хрящ і, отже, є хондронейтральним препаратом. Крім того, до ЦОГ-незалежних ефектів мелоксикаму можна віднести його вплив на ретинопатію при цукровому діабеті. При діабетичній ретинопатії на початку захворювання збільшується проникність судин, з'являється лейкостаз, у результаті чого формується судинна дисфункція й гине ендотелій капілярів. У дослідженні 2013 року було показано, що деякі протизапальрати, такі як етанерцепт, аспірин та мелоксикам, знижують рівень лейкостазу і зменшують можливість загибелі ендотелію ретинальних капілярів [23].

Абсорбція із шлунково-кишкового тракту після орального застосування становить 89,0 %. Приймання харчів не впливає на процес абсорбції. В плазмі крові 99 % знаходиться в кон'югованому вигляді з білками. У

синовіальній рідині концентрація мелоксикаму становить 50 % від концентрації у плазмі крові. Засіб майже повністю проходить метаболізм до неактивних метаболітів у печінці. 5 % добової дози, а в окремих випадках менше виділяється у незміненому стані з калом, незначна кількість виділяється. Період виведення (напів) коливається від 13 до 25 год залежно від способу застосування (внутрішньом'язовий, внутрішньовенний або пероральний). з сечею. Плазмовий кліренс коливається в межах 7–12 мл/хв після разової оральної дози, ректального або внутрішньовенного застосування. Для мелоксикама характерна лінійна фармакокінетика в межах дози (терапевтичної) від 7,5 мг до 15 мг після внутрішньом'язового або перорального застосування. Ниркова та печінкова та недостатність середнього та легкого ступеня тяжкості істотно не впливають на параметри – фармакокінетичні.

#### **1.4. Висновок з розділу огляду літератури та розробка пропозицій щодо експериментальних досліджень**

Враховуючи наявний досвід з визначення показників якості та безпечності субстанції мелоксикам залишається актуальним провести дослідження показників якості субстанцій кальцію глюконату, борної кислоти та натрію гідрокарбонату; провести токсикологічні (доклінічні) дослідження субстанцій кальцію глюконату, борної кислоти та натрію гідрокарбонату.

## РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

### **Інформація про досліджувані препарати:**

- субстанція кальцію глюконату.
- субстанція борної кислоти.
- субстанція натрію гідрокарбонату (див. додатки).

Методи дослідження: хімічні (показники якості субстанцій), токсикологічні (доклінічні дослідження препарату) та статистичні (вірогідність отриманих результатів).

**Місце проведення досліджень.** Експериментальні дослідження на лабораторних тваринах проведено у віварії ТОВ «ДЕВІЕ». Приміщення загальною площею 50 м<sup>2</sup>, 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.

**База проведення експериментальної частини роботи та обладнання.** Хімічні показники якості засобу та лабораторні дослідження крові тварин проводили на базі лабораторії з контролю якості, безпеки 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 українського підприємства «Філісіт-Діагностика»,
- верхньопривідна мішалка лабораторна Windaus RW 16 basic;
- лабораторний інкубатор (термостат);
- витяжна шафа Saalex 1200;

- устаткування для ЛАЛ-тестів;
- електронна вага А2500.



## РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

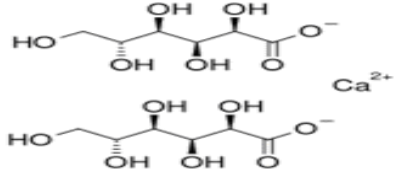
### 3.1. Вивчення фальсифікації субстанції кальцію глюконату

В період формування ринкових відносин, розбудови фармацевтичних підприємств збільшується ймовірність появи фальсифікованих лікарських засобів.

Фальсифікація субстанцій, які використовуються для виробництва ветеринарних лікарських засобів існує давно, але якщо раніш вона була більш простою, то тепер вона стала більш складною. Лабораторний контроль вхідної сировини складається з таких операцій: проведення ідентифікації та визначення масової частки кальцію глюконату і борної кислоти. Проведення випробовування, зокрема підготовка проб для досліджень (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

#### Показники якості субстанції кальцію глюконату згідно із етикеткою та сертифікатом якості

Назва субстанції	Кальцію глюконат
Виробник	Rensin chemicals Ltd, Китай
Постачальник	ТД «Макрохім», Україна
Форма випуску	Мішок поліетиленовий двошаровий, 25 кг
АТС vet	A12A A0, препарати кальцію
Хімічна формула	$C_{12}H_{22}CaO_{14}$
Структурна формула	
Хімічна формула	Кальцієва сіль глюконової кислоти
Брутто-формула	$C_{12}H_{22}CaO_{14}$
Молярна маса	430,373 г/моль

CAS№	299-28-5
Фармакотерапевтична група	Субстанції
Фармакологічна група	Макро- і мікроелементи
Показання	Виробництво готових лікарських форм

Проаналізувавши документацію субстанції, встановлено, що наведена інформація є достовірною і точною. Ці серії продукції було вироблено (включаючи пакування та маркування) у повній відповідності з ліцензійними вимогами, встановленими місцевим регуляторним органом, а також відповідно до специфікацій.

Також проведено контроль якості субстанції відповідно до вимог (табл. 2).

*Таблиця 2*

**Показники якості та методи контролю субстанції кальцію глюконату**

Показники якості	Допустимі межі	Методи контролю
Опис	Білий зернистий або кристалічний порошок без запаху і смаку	ДФУ-1.0 ст. 379
Розчинність	Повільно розчиняється в холодній воді (1:50), легко - в киплячій (1: 5), практично не розчиняється в етанолі і ефірі	ДФУ-1.0 ст. 379
Ідентифікація	Повна: якісні реакції, ТШХ	ДФУ-1.0 ст. 379
Кількісне визначення	Кальцію глюконат містить не менше 98,5 % і не більше 102,0 % кальцію D-глюконату моногідрату	ДФУ-1.0 ст. 379
Упакування	Поліетиленові пакети	ДСТУ 7275:2012
Зберігання	У сухому захищеному від світла місці, при температурі не вище 25 °С.	ДФУ-1.0 ст. 379

Визначення зовнішнього вигляду і кольору проводять візуально при розсіяному світлі. Визначення запаху проводили органолептично.

*Проведення контролю.* Вміст упакування субстанції висипали на аркуш фільтрувального паперу тонким шаром (2-3 мм), притискають шпателем і оцінюють консистенцію і колір препарату. Для визначення запаху від 0,5 г до 2,0 г субстанції розподіляли тонким шаром на годинниковому склі, діаметром 6-8 см, через 15 хв визначають запах або його відсутність.

*Ідентифікація. Якісна реакція.* 1 г субстанції розчиняють у 50 мл води, додають 0,3 мл 3 % розчину заліза (III) хлориду; має з'явитися світло-зелене забарвлення. Субстанція дає характерні реакції на Кальцій.

*Кількісне визначення.* 0,8000 г випробуваного зразка розчиняють в 20 мл гарячої води Р, охолоджують, доводять водою Р до об'єму 300 мл і проводять комплексометричне визначення кальцію (ДФУ 1.0 ст. 98 п. 2.5.11). 1 мл 0,1 М розчину натрію едетату відповідає 44,84 мг  $C_{12}H_{22}CaO_{14}$  [15].

Токсичність субстанції кальцію глюконату досліджували на 96 лабораторних статевозрілих щурах-самцях, масою (250,0-260,0) г.

Кальцій глюконат у вигляді розчину для ін'єкцій вводили підшкірно протягом 3-х діб, потім введення завершували і спостерігали за тваринами ще 7 діб.

Для досліду було сформовано одну контрольну та три дослідні групи по 24 щура у кожній (n=24): контрольній групі тварин підшкірно вводили стерильну дистильовану воду, I група — тварини, яким підшкірно вводили дослідний препарат дозі 0,30 мл/кг (максимальна терапевтична, орієнтовно розрахована відповідно до листівки вкладки), II група – 1,50 мл/кг (п'ятикратна) та III група – 3,00 мл/кг (десятикратна) відповідно.

У динаміці підгострого експерименту (щоденно) у щурів 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.

Відбір проб крові для гематологічних та біохімічних досліджень проводили за умов тотального знекровлення під легким хлороформним наркозом до введення препарату, на першу, 4-ту і 11-ту добу експерименту відповідно.

Визначали оцінку функціонального стану організму лабораторних тварин у порівнянні з тваринами контрольної групи впродовж експерименту проводили за визначенням клініко-біохімічних показників у крові за загально-прийнятими методиками.

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

Результати досліджень обробляли методами варіаційної статистики з використанням пакета програм дисперсійного аналізу (ANOVA) StatPlus 7.6.5.0 (AnalystSoft Inc., США). Вірогідність отриманих результатів оцінювали за критерієм Тьюкі (HSD різниці середніх) за рівня вірогідності 95,0 % ( $p < 0,05$ ).

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

На протязі терміну спостереження (11 діб) лабораторні тварини були активними, мали апетит задовільний, добре реагували на світлові та звукові подразники, у них зберігалась збудливість рефлексорна; порушення дихання, сечовиділення та дефекації не відмічали. Виняток становила припухлість у місці ін'єкції за введення препарату в дозі 3,00 мл/кг маси тіла, яка зникла протягом доби після введення.

Результати дослідження рівня гематологічних показників у крові щурів у динаміці нанесення на шкіру субстанції кальцію глюконат у вигляді розчину для ін'єкцій наведено в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

**Рівень гематологічних показників крові щурів за умов гострого підшкірного введення субстанції кальцію глюконат у вигляді розчину для ін'єкцій ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )**

Дослідні групи	Терміни дослідження, доба			
	до введення	Перша доба	4-та доба	7-ма доба після припинення введення
Загальний гемоглобін (HGB), г/дм <sup>3</sup>				
Контроль				
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				
Гематокрит (HCT), %				
Контроль				
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				
Еритроцити (RBC), $10^{12}/\text{дм}^3$				
Контроль	8,13±0,13			
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				
Лейкоцити (WBC), $10^9/\text{дм}^3$				
Контроль	10,52±0,17			
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				

З результатів, наведених у таблиці 3.3, виявляється, що під час визначення гематологічних показників крові дослідних щурів патологічних змін, які свідчать про гемотоксичний вплив препарату Кальфодев (розчин для ін'єкцій), у тварин не зареєстровано.

Так, уміст загального гемоглобіну, рівень гематокриту та кількість еритроцитів і лейкоцитів у крові щурів до та після підшкірного введення препарату за значенням статистично не змінювались, проте впродовж введення відмічали тенденцію до підвищення кількості лейкоцитів за введення препарату в дозі 3,00 мл/кг маси тіла, яка зникла через 7 діб після припинення введення препарату.

Результати дослідження біохімічних показників у щурів при введенні субстанції кальцію глюконату наведено в таблиці 3.4.

*Таблиця 3.4.*

**Динаміка рівня основних біохімічних показників сироватки крові щурів за підгострого підшкірного введення субстанції кальцію глюконату у вигляді розчину для ін'єкцій (M±m; n=6)**

Дослідні групи	Терміни дослідження, доба			
	до введення	Перша доба	4-та доба	7-ма доба після припинення введення
1				
Активність АЛТ, мкмоль/год×см <sup>3</sup>				
Контроль	3,17±0,11			
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				
Активність АСТ, мкмоль/год×см <sup>3</sup>				

1				
Контроль				
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				
Загальні протеїни, г/дм <sup>3</sup>				
Контроль	64,94±0,75			
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				
Альбуміни, г/дм <sup>3</sup>				
Контроль				
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				
Креатинін, мкмоль/дм <sup>3</sup>				
Контроль	97,36±1,61			
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				
Сечовина, ммоль/дм <sup>3</sup>				
Контроль	5,16±0,16			
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				

З даних видно, що значення біохімічних показників крові щурів контрольної дослідних груп, в динаміці підшкірного введення та через 7 діб

після припинення введення препарату Кальфодев (розчин для ін'єкцій) у дозах 0,30; 1,50 і 3,00 мл/кг маси тіла знаходились у межах фізіологічної норми та вірогідно не відрізнялися між собою.

Виняток складала визначена тенденція щодо підвищення ензиматичної активності АЛТ і АСТ відповідно на 1- і 3-тю добу після введення препарату у дозі 3,00 мл/кг маси тіла, яка зникала через 7 діб після припинення введення субстанції кальцію глюконат у вигляді розчину для ін'єкцій.

Отже, можна зробити висновок, що підшкірне введення субстанції кальцію глюконат у вигляді розчину для ін'єкцій в дозах 0,30; 1,50 і 3,00 мл/кг маси тіла не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин за умов підгострого токсикологічного експерименту.



### 3.2. Вивчення фальсифікації субстанцій борної кислоти

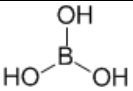
*Вивчення фальсифікації субстанцій борної кислоти.* Визначення зовнішнього вигляду і кольору проводять візуально при розсіяному світлі. Визначення запаху проводять органолептично.

Матеріали і обладнання: папір фільтрувальний за ГОСТ 12026; скло годинникове діаметром 6-8 см; шпатель металевий за ТУ 64-1-64.

Проведення контролю. Вміст упаковки субстанції висипають на аркуш фільтрувального паперу тонким шаром (2-3 мм), притискають шпателем і оцінюють консистенцію і колір препарату. Для визначення запаху від 0,5 г до 2,0 г субстанції розподіляють тонким шаром на годинниковому склі діаметром 6-8 см, через 15 хв. визначають запах або його відсутність (табл. 3.5; 3.6).

Таблиця 3.5

#### Показники якості субстанції борної кислоти, згідно із етикеткою та сертифікатом якості

Назва субстанції	Кислота борна
Виробник	Rensin chemicals Ltd, Китай
Постачальник	ТД «Макрохім», Україна
Форма випуску	Мішок поліетиленовий двошаровий, 25 кг
АТС vet	D08AD, борна кислота
Хімічна формула	Одноосновна кислота Льюїса
Структурна формула	
Хімічна формула	Кальцієва сіль глюконової кислоти
Брутто-формула	$BH_3O_3$
Молярна маса	61,83 г/моль
CAS№	10043-35-3
Фармакологічна група	Антисептичні та дезінфікуючі засоби. Препарати борної кислоти.

Таблиця 3.6

**Показники якості та методи контролю субстанції кислоти борної**

Показники якості	Допустимі межі	Методи контролю
Опис	Безбарвні, блискучі, трохи жирні на дотик лусочки або дрібний кристалічний порошок	ДФУ-1.0 ст. 392
Розчинність	Розчинна у холодній (1:25) і (легко) – в киплячій (1:4) воді; розчинна також у спирті (1:25)	ДФУ-1.0 ст. 392
Ідентифікація	Повна: якісні реакції, ТШХ	ДФУ-1.0 ст. 392
Кількісне визначення	Борна кислота містить не менше 99,0 % і не більше 100,5 % $H_3BO_3$	ДФУ-1.0 ст. 392
Упакування	Поліетиленові пакети	ДСТУ 7275:2012
Зберігання	У сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25 °С	ДФУ-1.0 ст. 392

*Ідентифікація.* Обладнання: - посуд лабораторний скляний: циліндри, мензурки, колби, бюретка, пробірки за ГОСТ 1770.

Якісна реакція з метанолом в присутності кислоти сірчаної конц., утворюється борнометилловий ефір, який горить полум'ям із зеленою облямівкою реакції на кальцій.

*Кількісне визначення.* Обладнання: посуд мірний лабораторний скляний: циліндри, мензурки, колби, бюретка, пробірки за ГОСТ 1770;

1,000 г випробуваного зразка розчиняють при нагріванні в 100 мл води Р, що містить 15 г манніту Р, і титрують 1 М розчином натрію гідроксиду до

появи рожевого забарвлення, використовуючи як індикатор 0,5 мл розчину фенолфталеїну Р.

1 мл 1 М розчину натрію гідроксиду відповідає 61,8 мг  $\text{H}_3\text{BO}_3$ .

Отже, фальсифікація субстанцій кальцію глюконату та борної кислоти здійснюється такими способами: ідентифікація та кількісне визначення. досліджували на 20 собаках масою (15,7-17,2) кг. Препарат вводили підшкірно один раз на добу протягом 3-х діб, потім введення завершували і спостерігали за тваринами ще 7 діб.

Для досліду було сформовано одну контрольну та три дослідних групи по 5 тварин у кожній. вівцям контрольної групи підшкірно вводили стерильну дистильовану воду. Тваринам I дослідної групи підшкірно вводили препарат в дозі 0,30 мл/кг маси тіла (терапевтична доза, орієнтовно розрахована відповідно до листівки-вкладки), II групи — в дозі 1,50 мл/кг, III групи — 3,00 мл/кг маси тіла відповідно 5-ти і 10-ти кратна доза.

У динаміці підгострого експерименту (щоденно) у собак 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.

Відбір проб крові для гематологічних та біохімічних досліджень проводили натщесерце з підшкірної вени передпліччя до введення препарату, на першу, 4-ту і 11-ту добу експерименту відповідно.

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

Результати досліджень обробляли методами варіаційної статистики з використанням пакета програм дисперсійного аналізу (ANOVA) StatPlus 7.6.5.0 (AnalystSoft Inc., США). Вірогідність отриманих результатів

оцінювали за критерієм Тьюкі (HSD різниці середніх) за рівня вірогідності 95,0 % ( $p < 0,05$ ).

Під час дослідження загального клінічного стану собак дослідних груп суттєвих змін у поведінці та зовнішньому вигляді не виявлено, порівняно з контролем. Установлено, що за введення препарату в терапевтичній дозі (0,30 мл/кг) не реєстрували змін інтегральних показників, а у дозах 1,50 мл/кг та 3,00 мл/кг маси тіла – змін рухової активності тварин. Протягом всього терміну спостереження (11 діб) тварини були активними, мали задовільний апетит, добре реагували на звукові та світлові подразники, у цих тварин була наявна рефлекторна збудливість, сечовиділення та дефекації не відмічали порушення дихання також не відмічали. Виняток становила незначна припухлість у місці ін'єкції за введення препарату в дозі 3,00 мл/кг маси тіла, які зникали протягом доби після введення.

Результати дослідження гематологічних показників крові собак у динаміці експерименту наведено в таблиці 3.7. Установлено, що рівень гематологічних показників у собак до та після підшкірного введення борної за значенням статистично не змінювались. Винятком була тенденція до підвищення кількості еритроцитів і лейкоцитів за введення препарату в дозі 3,00 мл/кг маси тіла через 3-доби введення, яка зникла через 7 діб після припинення введення препарату.

Таблиця 3.7

**Рівень гематологічних показників у периферичній крові собак за  
( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

Дослідні групи	Терміни дослідження, діб			
	до введення	Перша доба	4-та доба	7-ма доба після припинення введення
<b>Загальний гемоглобін (HGB), г/дм<sup>3</sup></b>				
Контроль	157,81±2,27			
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				
<b>Гематокрит (HCT), %</b>				
Контроль	49,23±0,68			
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				
<b>Еритроцити (RBC), 10<sup>12</sup>/дм<sup>3</sup></b>				
Контроль	6,34±0,13			
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				
<b>Лейкоцити (WBC), 10<sup>9</sup>/дм<sup>3</sup></b>				
Контроль	11,51±0,15			
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				

Тобто, патологічних змін рівня гематологічних показників, що свідчать

п

р Результати дослідження рівня показників функціонального стану печінки та нирок у сироватці крові собак у динаміці підшкірного введення наведено в таблиці 3.8.

г

Таблиця 3.8

е **Динаміка рівня основних біохімічних показників сироватки крові (M±m; n=5, \*– p<0,05, відносно контролю)**

о Дослідні о групи к	Терміни дослідження, діб			
	до введення	Перша доба	4-та доба	7-ма доба після припинення введення
с 1				
Активність АЛТ, мкмоль/год×см <sup>3</sup>				
Контроль	1,07±0,04			
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				
Активність АСТ, мкмоль/год×см <sup>3</sup>				
Контроль				
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				
Загальні протеїни, г/дм <sup>3</sup>				
Контроль	64,28±0,83			
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				

п

а

р

а

борної кислоти, у крові собак дослідних груп не виявлено.

1				
Альбуміни, г/дм <sup>3</sup>				
Контроль				
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				
Креатинін, мкмоль/дм <sup>3</sup>				
Контроль	86,69±1,53			
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				
Сечовина, ммоль/дм <sup>3</sup>				
Контроль	6,36±0,11			
0,30 мл/кг				
1,50 мл/кг				
3,00 мл/кг				

Установлено, що підшкірне введення собакам ветеринарного препарату борної кислоти у дозах 0,30; 1,50 і 3,00 мл/кг маси тіла протягом 3-х діб у цілому не впливає на клініко-біохімічні показники крові. Виняток складало визначене підвищення значень активності гепатоспецифічних ензимів АЛТ і АСТ на 12,6 і 19,9 % та концентрації сечовини – на 6,7 % ( $p < 0,05$ ) через 3 доби за введення препарату в дозі 3,00 мл/кг маси тіла. Слід відзначити, що усі досліджувані показники за значенням не набували статистичних змін через 7 діб після припинення введення борної кислоти та не відрізнялись від їх контрольного рівня.

в дозах 0,30; 1,50 і 3,00 мл/кг маси тіла не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм собак за умов підгострого токсикологічного експерименту.

### 3.3. Вивчення фальсифікації субстанції натрію гідрокарбонату

Містить щонайменше 99,0 % натрію гідрокарбонату  $\text{NaHCO}_3$  у перерахуванні на суху речовину.

**Опис.** Білий чи майже білий кристалічний порошок без запаху.

**Розчинність.** Розчинний у воді, практично нерозчинний у спирті 96%.

**Ідентифікація.** Субстанція дає характерні реакції на натрій (реакція А) та гідрокарбонати (ДФУ «Загальні реакції на ідентичність»).

\*Прозорість розчину. 5 г субстанції розчиняють у 100 мл води, вільної від діоксиду вуглецю (розчин А). Отриманий розчин повинен бути прозорим для субстанції, призначеної для виробництва стерильних лікарських форм, або каламутність розчину не повинна перевищувати еталон ІІ для субстанції, призначеної для виробництва нестерильних лікарських форм (ДФУ «Прозорість та ступінь каламутності рідин»).

2 \*Кольоровість розчину. Розчин, отриманий у випробуванні «Прозорість розчину», має бути безбарвним (ДФУ «Ступінь фарбування рідин»).

**Карбонати.** Значення рН свіжоприготовленого розчину А має бути не більше 8,6 (ДФУ «Іонометрія», метод 3).

**Хлориди.** Не більше 0,015% (ДФУ «Хлориди»). До 7 мл розчину А додають 2 мл концентрованої азотної кислоти і розводять отриманий розчин до 15 мл водою. **Сульфати.** Не більше 0,015% (ДФУ «Сульфати»). 1,0 г субстанції суспендують у 10 мл води. До отриманої суміші додають хлористоводневу кислоту концентровану до нейтральної реакції середовища та 1 мл понад те, і розводять отриманий розчин до 15 мл водою.

**Залізо.** Не більше 0,005% (ДФУ «Залізо»). 0,6 г субстанції розчиняють у 10 мл води. **Важкі метали.** Не більше 0,001% (ДФУ «Важкі метали»). 1,0 г субстанції розчиняють у 10 мл води. **Кальцій.** Не більше 0,01% (ДФУ «Кальцій»). 1,0 г субстанції суспендують у 10 мл води. До отриманої суміші додають хлористоводневу кислоту концентровану до нейтральної реакції



середовища та розводять отриманий розчин до 15 мл водою. Амоній. Не більше 0,002% (ДФУ «Амоній»).

1,0 г субстанції розчиняють у 10 мл води. Миш'як. Не більше 0,0002% (ДФУ «Миш'як»). Для визначення використовують 0,25г субстанції. Втрата у масі при висушуванні. Не більше 0,25%. Близько 4 г (точна навішування) субстанції сушать над силікагелем протягом 4 годин. \*Бактеріальні ендотоксини. Не більше 0,04 ЄЕ на 1 мг субстанції (ОФС «Бактеріальні ендотоксини»).

**Мікробіологічна чистота.** Відповідно до вимог ДФУ «Мікробіологічна чистота». З Кількісне визначення. Близько 0,2 г (точне навішування) субстанції розчиняють у 20 мл води, вільної від вуглецю діоксиду, і титрують 0,1 М розчином хлористоводневої кислоти (індикатор – 0,1 мл 0,1 % спиртового розчину метилового помаранчевого). Паралельно проводять контрольний досвід. 1 мл 0,1 М розчину хлористоводневої кислоти відповідає 8401 мг натрію гідрокарбонату  $\text{NaHCO}_3$ .

**Зберігання.** У добре закупореній упаковці.

\*Контроль за показниками якості «Прозорість розчину», «Кольоровість розчину» і «Бактеріальні ендотоксини» проводять у субстанціях, призначених для виробництва лікарських препаратів для парентерального застосування.

Лабораторні показники якості субстанції наведено у табл. 3.9. Отже, якість товару відповідає вимогам ГОСТ 2156-76.

Прогнозування канцерогенного ефекту при підшкірному натрію гідрокарбонату у вигляді розчину для ін'єкцій проводили з використанням мікроядерного тесту (методу оцінки генотоксичності за виявленням мікроядер в клітинах кісткового мозку ссавців). Тест проведений відповідно до рекомендацій [10]. В якості експериментальної моделі були взяті самці і самки білих нелінійних мишей масою тіла  $23,0 \pm 1,0$  г. Тварин утримували в стандартних умовах віварію за температури (18-21) °С та вологості (55-65) %, зі штучним освітленням, з вільним доступом до води та корму.

## Показники якості субстанції натрію гідрокарбонату

№	Показник	Норматив	Випробування
1	Зовнішній вигляд	Білий кристалічний порошок без запаху	Відповідає
2	Масова частка двовуглекислого натрію (NaHCO <sub>3</sub> ), %	> 0,7	0,4
3	Масова частка вуглекислого натрію (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ), %	≤ 0,7	0,4
4	Масова частка хлоридів у перерахунку на хлорид натрію (NaCl), %	≤ 0,04	0,02
5	Масова частка миш'яку (As), випробування за п. 3.7	Витримує	Витримує
6	Масова частка нерозчинених у воді речовин, випробування за п. 3.8	Витримує	Витримує
7	Масова частка заліза (Fe), %	≤ 0,005	≤ 0,001
8	Масова частка кальцію (Ca), %	≤ 0,05	≤ 0,04
9	Масова частка сульфідів у перерахунку на SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , %	≤ 0,02	≤ 0,02
10	Масова частка вологи, %	≤ 0,2	≤ 0,001
11	Масова частка солей амонію у перерахунку на NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , %	≤ 0,001	0,001
12	Масова частка важких металів у перерахунку на свинець (Pb <sup>2+</sup> ), %	≤ 0,0005	0,0005

Перший експеримент було проведено на 58 самках нелінійних білих щурів 3-місячного віку і масою (190–200) г, що утримувались за оптимальних умов віварію [1-3]: 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 комплексний 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 за один раз, не перевищував  $5,0\text{ см}^3$ . Визначення діапазону доз для основного експерименту проводили у попередньому досліді.

З цією метою в попередньому експерименті за принципом аналогів було сформовано три дослідні групи та одну контрольну по 4 тварини в кожній ( $n=4$ ). Препарат вводили в дозах 2000,0; 6000,0 і 12000,0 мг/кг маси тіла за абсолютною масою препарату одноразово підшкірно. Тваринам контрольної групи вводили стерильну дистильовану воду.

Після обліку результатів попереднього досліді в основному експерименті було сформовано 6 дослідних груп, щурам яких вводили препарат у дозах –2000,0; 4000,0; 6000,0; 8000,0; 10000,0 і 12000,0 мг/кг маси тіла, а також контрольну групу, тваринам якої вводили стерильну дистильовану воду об'ємом  $2,0\text{ см}^3$  за аналогічним регламентом. У групі було по 6 тварин ( $n=6$ ).

На початку щурам вводили субстанцію натрію гідрокарбонату у дозах 2000,0; 6000,0 і 12000,0 мг/кг маси тіла. Клінічні спостереження показали, що підшкірне введення препарату щурам I дослідної групи (2000,0 мг/кг маси тіла) не викликало симптомів отруєння: щури були рухливі, добре реагували на зовнішні подразники, активно споживали корм та воду. Виключення становила незначна припухлість у місці введення, що зникла протягом доби.

Загибелі щурів у цій групі не спостерігали протягом 14-добового терміну спостереження (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

**Динаміка загибелі щурів у попередньому досліді за визначення гострої токсичності при підшкірному введенні субстанції натрію гідрокарбонату (n=16)**

Строки загибелі щурів, через	Групи щурів і дози, мг/кг маси тіла			
	Контроль	Дослід		
		I (2000,0)	II (6000,0)	III (12000,0)
<b>1-24 год</b>	–	–	–	<b>3</b>
<b>1-2 діб</b>	–	–	–	<b>1</b>
<b>3-10 діб</b>	–	–	<b>2</b>	–
<b>11 – 14 діб</b>	–	–	–	–
<b>Усього загинуло</b>	–	–	<b>2</b>	<b>4</b>

У щурів II дослідної групи (6000,0 мг/кг маси тіла) через одну-дві години після введення субстанції реєстрували незначне пригнічення, яке наростало протягом першої доби після введення, тварини неохоче приймали корм і воду, повільно пересувались по клітці, реакція на зовнішні подразники була зниженою. На (2-3)-тю добу у 2-х щурів спостерігали лише знижене споживання корму та тьмянний відтінок шерстного покриву, тоді як у 2-ох щурів відзначали відмову від корму та відсутність реакції на зовнішні подразники. Дані тварини загинули на 2-гу добу після введення, а клінічний стан щурів, які вижили відновлювався на (7-8)-му добу після введення (табл. 3.10). У місці введення препарату у двох тварин відмічали болючість та незначну припухлість.

У щурів III групи, яким препарат вводили в дозі 12000,0 мг/кг маси тіла, протягом (1-2)-х діб після введення відзначали дедалі більше пригнічення, тварини відмовлялися від корму і води, тварини неохоче пересувались по клітці, в основному сиділи на одному місці. У місці

введення препарату у всіх тварин відмічали болючість та виражену припухлість. Далі спостерігали коматозний стан і загибель усіх тварин з групи (табл. 3.11).

Таблиця 3.11

**Динаміка загибелі щурів в основному досліді за визначення гострої токсичності при підшкірному введенні субстанції натрію гідрокарбонату (n=42)**

Групи щурів і дози, мг/кг маси тіла		Строки загибелі щурів, через				
		1-24 год	1-2 доби	3-9 діб	10-14 діб	Усього загинуло
Контроль		–	–	–	–	–
Дослід	I (2000,0)	–	–	–	–	–
	II (4000,0)	–	–	–	–	–
	III (6000,0)	–	–	<b>2</b>	–	
	IV (8000,0)	–	<b>3</b>	–	–	
			<b>2</b>	–	–	
	VI (12000,0)		<b>2</b>	–	–	

В основному досліді щурам вводили препарат субстанції натрію гідрокарбонату у дозах 2000,0; 4000,0; 6000,0; 8000,0; 10000,0 і 12000,0 мг/кг маси тіла. Під час спостереження за тваринами I і II дослідної групи встановлено, що підшкірне введення препарату щурам не викликало симптомів отруєння: щури були рухливі, добре реагували на зовнішні подразники, активно споживали корм та воду. Виключення становила незначна припухлість у місці введення, що зникла протягом доби. Загибелі щурів у цих групах не спостерігали протягом 14-добового терміну спостереження (табл. 3.11).

У щурів III дослідної групи (6000,0 мг/кг маси тіла) спостерігали більш

виражену клінічну картину отруєння, внаслідок чого на 3-тю добу загинуло дві тварини (табл. 3.11).

У щурів IV-VI дослідних груп (8000,0-12000,0 мг/кг маси тіла) спостерігали схожу клінічну картину отруєння причому вона була дозозалежною. Так, через одну-дві години після введення препарату реєстрували незначне пригнічення, яке наростало протягом першої доби після введення, тварини неохоче приймали корм і воду, повільно пересувались по клітці, реакція на зовнішні подразники була зниженою. На (1-2)-гу добу у 3-х щурів з IV, 5-ти – з V і усіх щурів з VI дослідної групи спостерігали відмову від корму та відсутність реакції на зовнішні подразники. Дані тварини загинули протягом (1-2)-х діб після введення, а клінічний стан щурів, які вижили відновлювався на (9-12)-ту добу після введення (табл. 3.4). У місці введення препарату у тварин за введення максимальної дози відмічали болючість та припухлість.

Після загибелі щурів робили патрозтин. Під час огляду зовнішнього трупів дослідних тварин встановлено, що шерсть була скуйовджена, тьмяна; витікань з ротової та носової порожнини не спостерігали; відзначали блідість видимих слизових оболонок.

На розтині у щурів реєстрували:

- блідість слизових оболонок ротової порожнини, трахеї, глотки та стравоходу;
- у місці введення відмічали запалення та набряк підшкірної клітковини та гематоми;
- шлунок порожній у деяких з невеликою кількістю корму, спавшийся або здутий, без ознак запалення;
- серце збільшене в об'ємі, передсердя кровонаповнені;
- кров згорнута;
- печінка збільшена в об'ємі, від коричневого до світло-коричневого кольору, пружної консистенції;
- легені селезінка та підшлункова залоза – без змін;

- нирки світло-коричневого кольору, не збільшені в об'ємі;
- у тонкому та товстому кишечнику встановлено здуття.

Наступним етапом вивчення токсикологічних характеристик препарату Кальфодев (розчин для ін'єкцій) було визначення показника середньолетальної дози та її стандартної похибки ( $LD_{50}$ ,  $LD_{10}$ ,  $LD_{16}$ ,  $LD_{84}$ ,  $LD_{90}$ ,  $LD_{100}$ ).

Середньолетальну дозу  $LD_{50}$  розраховували за методом пробіт-аналізу за Прозоровським В. Б.

розраховували за методом найменших квадратів для пробіт-аналізу кривих летальності. Встановлено відсоток летальності, пробіти ( $Y$ ), вагові коефіцієнти пробітів ( $Z$ ).

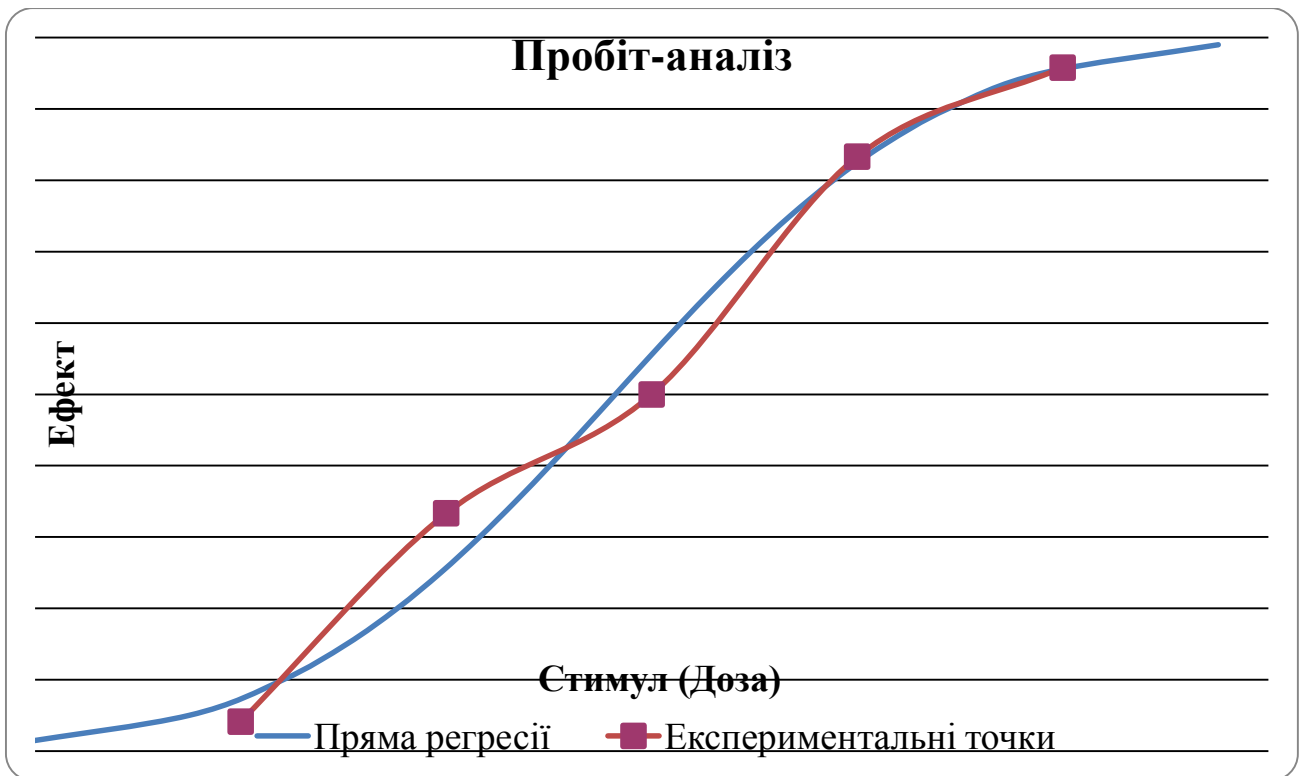
Для побудови графіка на осі абсцис відкладали значення доз препарату (мг/кг), а на осі ординат — значення ефекту (%).

Графічне зображення кривої, що відображає залежність «доза-ефект» для щурів представлено на рисунку 3.2.

Результати обчислення середньолетальної дози препарату для щурів за умов перорального введення наведено у таблиці 3.12.

За результатами досліджень установили, що показник  $LD_{50}$  препарату Кальфодев (розчин для ін'єкцій) за умов його одноразового підшкірного введення щурам-сакам складає  $7645,37 \pm 840,55$  мг/кг,  $LD_{10}$  — 4413,30 мг/кг,  $LD_{16}$  — 5123,72 мг/кг,  $LD_{84}$  — 10167,01 мг/кг,  $LD_{90}$  — 10877,43 мг/кг,  $LD_{100}$  — 11427,84 мг/кг маси тіла відповідно.

Отже, ветеринарний препарат Кальфодев (розчин для ін'єкцій) при підшкірному введенні за токсичністю можна віднести до VI класу – відносно нешкідливих речовин ( $LD_{50Subcut} > 4500,0$  мг/кг маси тіла) (Коцюмбас І. Я., 2005).



**Рис. 3.2.** Крива летальності щурів-самок за умов одноразового підшкірного введення препарату Кальфодев (розчин для ін'єкцій).

*Таблиця 3.12*

**Результати обчислення летальних доз субстанції натрію гідрокарбонату за умов одноразового підшкірного введення щурам-самкам**

Стимул (Доза)	Відсоток (%)	N	Пробіт (Y)	Ваговий коефіцієнт (Z)
1	2	3	4	5
2000	4,1667	6	3,2680	1,5359
4000	4,1667	6	3,2680	1,5359
6000	33,3333	6	4,5697	4,5697
8000	50,0000	6	5,0000	5,0000
10000	83,3333	6	5,9674	3,5653
12000	95,8333	6	6,7332	1,5336



1	2	3	4	5
<b>Регресійна статистика</b>				
<b>LD<sub>50</sub></b>	<b>7645,37</b>	<b>LD<sub>50</sub> Стандартна похибка</b>		<b>840,55</b>
<i>LD<sub>10</sub></i>	4413,30	<i>LD<sub>16</sub></i>	5123,72	
<i>LD<sub>84</sub></i>	10167,01	<i>LD<sub>90</sub></i>	10877,43	
<i>LD<sub>100</sub></i>	11427,84			

У другій серії експерименту натрію гідрокарбонату у вигляді ін'єкційного розчину у дозах 0,30 мл/кг і 1,50 мл/кг маси тіла вводили підшкірно одноразово тільки мишам-самцям (n=6) з фіксацією клітинного матеріалу через 24 год після введення. У другій серії випробуваний препарат в аналогічних дозах вводили підшкірно самцям і самкам мишей (n=6) щодня протягом 5 діб. Фіксацію клітинного матеріалу здійснювали через 24 год після останнього введення. Для проведення експерименту за принципом аналогів було також сформовано дві контрольні групи (позитивний та негативний контроль) по 6 мишей у кожній.

Негативним контролем була стерильна дистильована вода. В якості позитивного контролю при одноразовому введенні (пероральному) використовували циклофосфамід в дозі 20,0 мг/кг маси тіла. Приготування цитогенетичних препаратів проводили згідно з методичними вказівками [11]. Отримані препарати (два скла від кожної тварини) піддавали мікроскопічному цитогенетичному аналізу.

Аналізували 2000 поліхроматофільних еритроцитів від кожної тварини, співвідношення нормо- і поліхроматофільних еритроцитів визначали при підрахунку 500 еритроцитів. Критерієм позитивного результату було відтворене і / або залежне від дози значуще збільшення числа поліхроматофільних еритроцитів (ПХЕ) з мікроядрами принаймні в одній з груп в порівнянні з контрольною.

Отриманий позитивний результат свідчить, що речовина індукує хромосомні пошкодження та / або порушення мітотичного апарату клітин у експериментальних тварин. Статистичну обробку проводили відповідно до загальноприйнятих рекомендацій. Частка ПХЕ від всіх еритроцитів в нормі не повинна перевищувати 0,2 %.

Так, (таблиця 3.10) у мишей з групи негативного контролю, частка поліхроматофільних еритроцитів становила 0,117 %, що входило в межу норми. У мишей з групи позитивного контролю, що отримували циклофосфамід в дозі 20,0 мг/кг маси тіла, частка поліхроматофільних еритроцитів становила (0,633-0,733) %.

Таблиця 3.10

**Результати оцінки цитогенетичної активності натрію гідрокарбонату у вигляді ін'єкційного розчину у тесті на індукцію мікроядер в клітинах кісткового мозку ссавців**

Група (препарат, доза)	№ миші	Кількість ПХЕ з мікроядрами на 1000 ПХЕ		Частка ПХЕ від всіх еритроцитів, %
		На кожну мишу	На групу в цілому	
Перша серія експерименту (одноразове введення)				
Миші-самці, негативний контроль (стерильна дистильована вода)	1	1	1,17±0,41	0,117
	2	1		
	3	1		
	4	2		
	5	1		
	6	1		
Миші-самці, позитивний контроль (циклофосфамід в дозі	1	6	6,33±1,97	0,633
	2	10		
	3	6		

20 мг/кг маси тіла)	4	4		
	5	6		
	6	6		
Миші-самці, Кальфодев (розчин для ін'єкцій), 0,30 мл/кг маси тіла	1	1	1,33±0,52	0,133
	2	1		
	3	1		
	4	1		
	5	2		
	6	2		
Миші-самці, натрію гідрокарбонату у вигляді розчину для ін'єкцій, 1,50 мл/кг маси тіла	1	2	1,33±0,52	0,133
	2	1		
	3	1		
	4	1		
	5	1		
	6	2		
Друга серія експерименту (підшкірне введення протягом 5 діб)				
Миші-самці, негативний контроль (стерильна дистильована вода)	1	2	1,17±0,41	0,117
	2	1		
	3	1		
	4	1		
	5	1		
	6	1		
Миші-самці, позитивний контроль (циклофосфамід в дозі 20 мг/кг маси тіла)	1	7	7,00±2,00	0,700
	2	7		
	3	6		
	4	7		
	5	8		
	6	10		
Миші-самці, натрію	1	1	1,33±0,52	0,133

гідрокарбонату у вигляді розчину для ін'єкцій, 0,30 мл/кг маси тіла	2	1		
	3	1		
	4	2		
	5	2		
	6	1		
Миші-самці, натрію гідрокарбонату у вигляді розчину для ін'єкцій, 1,50 мл/кг маси тіла	1	1	1,33±0,52	0,133
	2	1		
	3	2		
	4	1		
	5	2		
	6	1		
Миші-самки, негативний контроль (стерильна дистильована вода)	1	1	1,17±0,41	0,117
	2	1		
	3	1		
	4	2		
	5	1		
	6	1		
Миші-самки, позитивний контроль (циклофосфамід у дозі 20 мг/кг маси тіла)	1	9	7,33±1,86	0,733
	2	9		
	3	7		
	4	7		
	5	4		
	6	8		
Миші-самки, натрію гідрокарбонату у вигляді розчину для ін'єкцій, 0,30 мл/кг маси тіла	1	1	1,33±0,52	0,133
	2	1		
	3	2		
	4	2		
	5	1		
	6	1		

Миші-самки, натрію гідрокарбонату у вигляді розчину для ін'єкцій, 1,50 мл/кг маси тіла	1	3	1,50±0,84	0,150
	2	1		
	3	1		
	4	1		
	5	1		
	6	2		

У мишей обох статей, яким протягом 5 діб підшкірно вводили натрію гідрокарбонату у вигляді розчину для ін'єкцій у терапевтичній дозі (0,30 мл/кг маси тіла) та п'ятикратній (1,50 мл/кг маси тіла) частка поліхроматофільних еритроцитів не мала вірогідних відхилень між собою та становила (0,133-0,150) %, що входило в межу норми.

Отже, натрію гідрокарбонату у вигляді розчину для ін'єкцій за умов 5-добового підшкірного введення в дозах 0,30 і 1,50 мл/кг маси тіла не проявляє канцерогенної дії (під час мікроскопічних досліджень частка поліхроматофільних еритроцитів не мала вірогідних відхилень між собою та становила (0,133-0,150) %, що входило в межу норми (до 0,2 %).

Толерантність щодо натрію гідрокарбонату у вигляді розчину для ін'єкцій випробовували на 7 групах мурчаків-самців (n=5, масою 330-350 г): тваринам дослідних груп препарат вводили підшкірно в дозах 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 і 3,0 мл/кг маси тіла; тварини 7 групи – були контрольними.

Спостереження за тваринами проводили впродовж 10 діб після нанесення. Фізіологічний стан дослідних тварин оцінювали за показниками рухливості, наявності апетиту, поведінки (зокрема реакції на больовий та зоровий подразники), стану волосяного покриву.

Результати дослідження наведено у таблиці 3.11.

Так, натрію гідрокарбонату у вигляді розчину для ін'єкції не чинив негативного впливу на організм та поведінку мурчаків при підшкірному введенні в дозах від 0,5 до 2,0 мл/кг маси тіла відповідно, тоді як за введення його в дозах 2,5 і 3,0 мл/кг маси тіла у 2-х мурчаків з 5-ї дослідної групи та у

всіх тварин з 6-ї групи спостерігали незначне пригнічення та припухлість у місці ін'єкції, що зникали протягом першої доби після введення.

Отже, натрію гідрокарбонату у вигляді розчину для ін'єкції не чинить негативного впливу на організм та поведінку мурчаків при підшкірному введенні в дозах (0,5-2,0) мл/кг маси тіла.

*Таблиця 3.11*

**Результати вивчення толерантності мурчаків щодо натрію гідрокарбонату у вигляді розчину для ін'єкцій**

<b>№ п/ч</b>	<b>Доза введення, мл/кг маси тіла</b>	<b>Кількість тварин</b>	<b>Наявність клінічних ознак отруєння</b>	<b>Загибель мурчаків</b>
1	0,5	5	Відсутні	0
2	1,0	5	Відсутні	0
3	1,5	5	Відсутні	0
4	2,0	5	Відсутні	0
5	2,5	5	2	0
6	3,0	5	5	0
7	0 (контроль)	5	Відсутні	0

## ВИСНОВКИ

1. Фальсифікація субстанцій кальцію глюконату, борної кислоти та натрію гідрокарбонату здійснюється такими способами: ідентифікація та кількісне визначення.

2. За результатами визначення параметрів гострої токсичності у разі одноразового внутрішньошлункового введення  $LD_{50}$  для щурів-самців (за абсолютною масою препарату) складає  $30893,74 \pm 5604,43$  мг/кг маси тіла, що дозволяє за токсичністю віднести його до VI класу – речовин відносно нешкідливих ( $LD_{50} > 15000,0$  мг/кг маси тіла), а за ступенем небезпечності до IV класу – малонебезпечних речовин ( $LD_{50} > 5000,0$  мг/кг маси тіла).

3. За результатами визначення параметрів гострої токсичності препарату у разі одноразового підшкірного введення  $LD_{50}$  для щурів-самок (за абсолютною масою препарату) складає  $7645,37 \pm 840,55$  мг/кг, а для мишей-самок  $7459,35 \pm 939,77$  мг на кг живої маси тіла, що відносить його до VI класу – відносно нешкідливих речовин ( $LD_{50Subcut} > 4500,0$  мг/кг маси тіла). при нанесенні на шкіру кролів у дозах від 750,0 до 3000,0 мг/кг маси тіла не проявляє подразливої дії, а за ступенем небезпечності його можна віднести до IV класу – малонебезпечних речовин ( $LD_{50Percut} > 2500,0$  мг/кг маси тіла). не викликає подразнювальної (шкідливої) дії на слизову оболонку ока кролів, про що свідчить відсутність набряку повік протягом усього терміну спостереження, ін'єкція судин та помірні виділення з ока тварин лише протягом першої доби після нанесення.

через 7 діб після припинення введення препарату.

протягом 3-х діб за умов підгострого токсикологічного експерименту в дозах 0,30; 1,50 і 3,00 мл/кг маси тіла не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм тварин, оскільки гематологічні та біохімічні показники крові собак до та після підшкірного введення препарату за значенням статистично не змінювались. Виняток становила тенденція щодо підвищення кількості еритроцитів та лейкоцитів (через 3 доби введення) та підвищення рівня ензиматичної активності АЛТ і АСТ на 12,6 і 19,9 % ( $p < 0,05$ ) й концентрації сечовини (на 6,7 %) на 3-тю добу за введення препарату в дозі 3,00 мл/кг маси тіла, які зникали через 7 діб після припинення введення препарату.

8. Досліджено толерантність мурчаків щодо субстанції натрію гідрокарбонату. Установлено, що препарат не чинить негативного впливу на організм та поведінку мурчаків при підшкірному введенні в дозах (0,5-2,0) мл/кг маси тіла, тоді як за введення його в дозах 2,5 і 3,0 мл/кг маси тіла у двох і у всіх тварин з відповідних груп спостерігали незначне пригнічення та припухлість у місці ін'єкції, що зникали протягом першої доби після введення відповідно.

за умов підшкірного введення вагітним щурам-самкам у дозах 0,30 та 1,50 мл/кг маси тіла не викликає загибелі та патологічних змін ембріонів, не чинить ембріотоксичної та тератогенної дії, однак за введення препарату в дозі 1,50 мл/кг маси тіла встановлено тенденцію до підвищення рівня загальної, до- та післяімплантаційної летальності ембріонів, тому при застосуванні його вагітним самкам слід суворо дотримуватися дозування.

за умов 5-добового підшкірного введення білим мишам у дозах 0,30 і 1,50 мл/кг маси тіла не проявляє канцерогенної дії (під час мікроскопічних досліджень частка поліхроматофільних еритроцитів не мала вірогідних відхилень між собою та становила (0,133-0,150) %, що входить в межу норми (до 0,2 %).



## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

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

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

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

5. Стаття 26 Закону України № 5456-VI від 16.10.2012 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження».  
L 358. 1986. Р. 1-29.

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

8. Прозоровский В. Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / Психофармакология и биологическая наркология. 2007. Т. 7. Вып. 3-4. С. 2090-2120.

9. Дыбан А. П. Методические указания по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияния их на репродуктивную функцию / А. П. Дыбан, В. Ф. Пучков, Н. А. Чеботарь и др. М.: МЗ СССР, 1986. С. 21.

10. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.

11. Оценка мутагенной активности химических веществ микроядерным методом (методические рекомендации). М., 1984. 17 с.

12. Дубініна А. А., Овчиннікова І. Ф., Дубініна С. О. та ін. Методи визначення фальсифікації товарів. Підручник. К.: «Видавничий дім «Професіонал», 2010. 272 с.

13. *Державна Фармакопея України*. Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид., доп. 1. Харків : РІРЕГ, 2004. 520 с.

14. *Державна Фармакопея України*. Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид., доп. 2. 2008. 620 с.

15. Розробка специфікації та контроль вхідних матеріалів для виробництва препарату на основ амоксициліну тригідрату / Р. М. Сачук, Л.-М. Є. Костишин, Б. В. Гутий, Я. С. Стравський, Т. А. Велесик, О. А. Кацараба, У. І. Тесарівська, С. В. Жигалюк, Л. В. Курилас, С. А. Пономарьова. Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин. Львів, 2022. Вип. № 23, №1. С. 154-160. doi: 10.36359/scivp.2022-23-1.22.

15. Фармако-технологічні показники якості ветеринарного лікарського засобу на основі кальцію глюконату / Р. М. Сачук, Т. А. Велесик, Я. С. Стравський, Б. В. Гутий, О. А. Кацараба, С. А. Пономарьова, С. Л. Джус. Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин. Львів, 2023. Вип. № 24, №1. С. 163-171. doi: 10.36359/scivp.2023-24-1.22.

16. Шуба Н. М. Застосування різних форм мелоксикаму при лікуванні остеоартрозу колінних суглобів та хребта. Н. М. Шуба, Т. Д. Воронова, А. С. Крилова. Ліки України. *Medicine of Ukraine*. №7 (233) /2019. С. 7-13.

17. Лукьянчук Е. КОМОРБИДНОСТЬ ПРИ ОСТЕОАРТРОЗЕ: РАЦИОНАЛЬНЫЙ ПОДХОД К ВЫБОРУ НЕСТЕРОИДНОГО ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРЕПАРАТА. Український ревматологічний журнал. № 4 (58). 2014. С. 67-71.

18. Rainsford K. D. Effects of meloxicam, compared with other NSAIDs, on cartilage proteoglycan metabolism, synovial prostaglandin E<sub>2</sub>, and production of interleukin 1, 6, 8 in human and porcine explants in organ culture / K.

D. Rainsford, C. Jing, F. C. Smith // *J. Pharm. Pharmacol.* – 1997. – No. 49. – P. 991–998.

19. Effects of the NSAIDs meloxicam and indometacin on cartilage proteoglycan synthesis and joint response to calcium pyrophosphate crystals in dogs / K. D. Rainsford, T. M. Skerry, P. Chindemi [et al.] // *Veterin. Research Comm.* – 1999. – No. 23. – P. 101–113.

20. Rainsford K. D. Profile and mechanisms of gastrointestinal and other side effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) / K. D. Rainsford, C. Ying, F. C. Smith // *Am. J. Med.* – 1999. – No. 107 (6A). – P. 27–35.

21. Sadowski T. Effects of non-steroidal antiinflammatory drugs and dexamethasone on the activity and expression of matrix metalloproteinase-1, matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 by bovine articular chondrocytes / T. Sadowski // *Osteoarthritis Cartilage.* – 2001. – No. 9 (5). – P. 407–415.

22. Do NSAIDs affect the progression of osteoarthritis? / L. Blot, A. Marcelis, J. P. Devogelaer [et al.] // *Inflammation.* – 2002. – No. 26 (3). – P. 139–142.

23. Naproxen, meloxicam and methylprednisolone inhibit urokinase plasminogen activator and inhibitor and gelatinases expression during the early stage of osteoarthritis / S. C. Chu, S. F. Yang, K. H. Lue [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2008. – No. 387 (1–2). – P. 90–96.

24. Lutty G. A. Effects of diabetes on the eye / G. A. Lutty // *Invest Ophthalmol Vis. Sci.* – 2013. – No. 54 (14). – P. ORSF81-7.