

УДК 619:618.2/7:616-085

**САЧУК Р.М.**, канд. вет.наук, e-mail: sachuk.08@mail.ru,

**ЖИГАЛЮК С.В.**, e-mail: ieuaan@ukr.net

*Дослідна станція епізоотології Інституту ветеринарної медицини НААН*

**КУЛІНІЧ О.В.\***, e-mail: olyakulnch@gmail.com

*Інститут ветеринарної медицини НААН*

**НЕЧИПОРЕНКО О.Л.**, канд. вет. наук, доц., e-mail: F-vet@sau.sumy.ua

*Сумський національний аграрний університет*

## **ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ТА ПОДРАЗНЮЮЧОЇ ДІЇ УТЕРОТОНІЧНОГО ПРЕПАРАТУ «УТЕРОДЕВ»**

*За результатами досліджень параметрів гострої токсичності препарату «Утеродев» встановлено величину напівлетальної дози (ЛД<sub>50</sub>) при внутрішньошлунковому введенні шуром, яка становила більше 5000 мг/кг. Дослідження гострої подразнювальної дії на морських свинках показали, що препарат «Утеродев» не викликає прямого подразнення шкіри у тварин. Це дозволило віднести ін'єкційний препарат "Утеродев" до четвертого класу небезпеки (відповідно до вимог СОУ 85.2-37-736:2011 та ГОСТу 12.1.007-76).*

**Ключові слова:** акушерсько-гінекологічні захворювання, пропаранолол гідрохлорид, гостра токсичність, подразнююча дія, лабораторна тварина, «Утеродев».

**Вступ.** Для стимуляції родової діяльності, лікування атонії та гіпотонії матки, профілактики післяродових ускладнень (затримка посліду, синдром ММА, тощо), комплексній терапії ендометритів та метритів, покращення заплідненості, отримання ембріонів у тварин-донорів ПП «Біофарм» спільно з Дослідною станцією епізоотології ІВМ НААН розроблено новий ін'єкційний препарат «Утеродев», до складу якого входить пропаранололу гідрохлорид. Обов'язковою умовою реєстрації нових лікарських препаратів є попередні доклінічні та клінічні випробування, у першу чергу токсикологічні дослідження на лабораторних тваринах. Ця умова знайшла своє відображення в Гельсінкській декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження» і в Законі про ветеринарну медицину України [1–3]. На результати досліджень, у тому числі щодо токсичного впливу речовин на організм, можуть суттєво впливати такі чинники, як стан та утримання тварин, їх статеві особливості та ін. Тому першим етапом дослідження має стати одержання інформації щодо дії досліджуваної речовини в умовах короткотривалого експерименту та визначення перспектив подальших випробувань.

**Метою роботи** було визначити параметри гострої токсичності та подразнюючої дії ін'єкційного препарату, на основі пропаранололу гідрохлориду у дослідах на лабораторних тваринах.

**Матеріали і методи досліджень.** В роботі використано нову розробку – ін'єкційний препарат «Утеродев», до складу якого входить пропаранолол гідрохлорид. Препарат призначають великій та дрібній рогатій худобі, свиням для стимуляції родової діяльності, при лікуванні гінекологічних патологій,

покращенню заплідненості. «Утеродев» застосовують згідно настанови, після його застосування продукцію тваринництва використовують без обмежень. Препарат проходить передреєстраційні доклінічні випробування.

Гостру токсичність «Утеродев» вивчали на щурах обох статей шляхом внутрішньошлункового введення, що передбачається для застосування у клінічній практиці [5].

Дослідження проведено на 50 білих беспородних щурах-самцях та самках масою 190–220 г. Для досліду використовували клінічно здорових тварин, яких утримували за температури 18–25°C, вологості 50–60%, звичайному світловому режимі «день-ніч» на стандартному раціоні з необмеженим доступом до води. Розрахунок ЛД<sub>50</sub> здійснювали методом Літчфілда і Уілкоксона в модифікації З. Рота [3] та методиками, викладеними у виданні «Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів» (2006) [5].

Перед дослідженням гризунів поділили на 5 груп (по 5 самок та 5 самців у кожній). За 24 год до введення препаратів щурів позбавляли корму. Дослідній групі «Утеродев» задавався внутрішньошлунково, натще, після чого тварин утримували ще 4 год без їжі з вільним доступом до води. Контрольній групі тварин протягом всього досліду вводили фізіологічний розчин. Під час вивчення гострої токсичності, при виборі дози для внутрішньошлункового введення, лімітуючим фактором стала можливість введення максимальної дози ІV класу токсичності від 5000 до 25000 мг/кг, з інтервалом 5000 мг/кг відповідно до СОУ 85.2-37-736:2011 та ГОСТу 12.1.007-76. Термін спостереження за тваринами при вивченні гострої токсичності, згідно з методичними рекомендаціями, склав 2 тижні [3]. Реєстрували можливі прояви порушень фізіологічного стану щурів, виживаність, динаміку маси тіла. Після закінчення терміну спостереження, тварин умертвляли шляхом декапітації, проводили розтин та макроскопічне дослідження внутрішніх органів, розраховували коефіцієнти їх маси.

Щоденне спостереження за тваринами мало на меті візуальну реєстрацію клінічних ознак токсичності чи загибелі. Оцінювання здійснювали за такими показниками: а) летальність (терміни загибелі тварин у кожній групі, щодня); б) оцінювання проявів токсичності (щодня); в) динаміка зміни маси тіла (у вихідному стані, на 3, 7 і 14 добу після введення); г) макроскопія внутрішніх органів, масові коефіцієнти внутрішніх органів у щурів (після завершення дослідження на 14 добу експерименту).

Дослідження гострої подразнювальної дії препарату проведено на 4 морських свинках, які знаходилися в умовах віварію Дослідної станції епізоотології ІВМ НААН. Тваринам за 24 години до нанесення досліджуваного препарату на дорзальній поверхні тіла ножицями ретельно вистригали шерсть [5]. Підготовлена поверхня була розділена на 2 сектори, на один наносили досліджуваний препарат, інший був контролем (ділянка інтактної шкіри). Препарат наносили в нерозведеному вигляді по 0,1 г на марлеву пов'язку з наступною аплікацією на шкіру. Після завершення 24-годинної експозиції ділянка нанесення на шкіру мазі промивалася водою. Спостереження за шкірою

проводили на 25, 48 та 72 години після аплікації. Визначали наявність струпу, еритеми, набряку.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Експериментально встановлено, що після внутрішньошлункового введення препарату в дозах: 5000, 10000, 15000, 20000 та 25000 мг/кг ознак інтоксикації у щурів не спостерігали: тварини були чистими, активними, мали задовільний апетит, реагували на звукові та світлові подразники, процеси сечовиділення і дефекації були в нормі, порушення дихання та судом не відзначали. Рефлекторна збудливість у всіх тварин була збережена. У ході експерименту не було встановлено загибелі в жодній з експериментальних груп (табл. 1).

Таблиця 1

**Результати дослідження гострої токсичності ін'єкційного препарату «Утеродев» при внутрішньошлунковому шляху введення**

Шлях введення препарату	№ групи	Стать	Доза, мг/кг	Загиблі щурі / виживши щурі
Внутрішньошлунковий	1	самці	5000	0/5
		самки	5000	0/5
	2	самці	10000	0/5
		самки	10000	0/5
	3	самці	15000	0/5
		самки	15000	0/5
	4	самці	20000	0/5
		самки	20000	0/5
	5	самці	25000	0/5
		самки	25000	0/5

Порівняння поведінкових рефлексів, споживання води та корму дослідними й контрольними тваринами не виявлено відмінностей. Аналізуючи результати спостереження за динамікою маси тіла щурів обох груп: тварини рівномірно набирали масу, їхня вага упродовж 14 діб збільшилася на 9,8% у самців та 10,2% у самок контрольної групи і відповідно 9,7% та 12,9% у дослідної групи відносно початкової маси (табл. 2).

Таблиця 2

**Динаміка маси тіла щурів під час вивчення гострої токсичності ін'єкційного препарату «Утеродев» при внутрішньошлунковому шляху введення,  $M \pm m$ ,  $n=5$**

№ групи	Група тварин	Маса тварин, г			
		вихідні дані	3 доби	7 діб	14 діб
<b>Самці</b>					
1	Контрольна	193,2±0,17	202,1±1,24	204,2±2,34	212,1±0,6
2	Дослідна	195,3±0,2*	198,1±0,3**	207,9±0,33	214,3±0,35
<b>Самки</b>					
3	Контрольна	191,3±0,03	193,6±0,39	203,1±2,6	210,9±3,7
4	Дослідна	193,8±1,06	196,6±1,09	209,9±2,36	218,9±2,9***

Примітки: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

Розтин та макроскопічне дослідження внутрішніх органів щурів проводили через 14 діб після початку експерименту. При патоморфологічному дослідженні, встановили, що щури дослідних і контрольних груп були нормальної вгодованості, шерсть блискуча, охайна, без облісінь та щільно прилягала до тіла, без виразок. Регіонарні лімфатичні вузли на дотик не збільшені. З носа, очей та інших природних отворів виділень не виявлено, шкіра та шерсть у області піхви та ануса чиста, без ознак подразнень. Слизова ротової порожнини блискуча, чиста, без виразок і нальоту. При розтині не виявлено патологічних змін внутрішніх органів грудної та черевної порожнин. Усі органи мали правильне анатомічне розташування, звичайний колір і консистенцію. У паренхіматозних органах не виявлено ознак запалення, порушень кровообігу і трофіки. Слизова оболонка шлунка, а також кишечника на момент огляду звичайного кольору з властивою рельєфністю без ознак набряків, ерозій і запалення.

Після розрахунку коефіцієнтів маси внутрішніх органів було встановлено, що даний показник не виходить за межі фізіологічної норми, має статеві залежності, але не відрізнявся у тварин контрольної та дослідної групи (табл. 3).

Отже, результати вивчення гострої токсичності ін'єкційного препарату не виявили будь-яких токсичних проявів при внутрішньошлунковому введенні в дозах: 5000, 10000, 15000, 20000 та 25000 мг/кг щурам-самцям та самкам.

При проведенні досліджень гострої подразнювальної дії зразка препарату «Утеродев» на шкіру морських свинок за весь період спостережень у жодної з тварин не було зафіксовано еритеми, струпу чи набряку.

Таблиця 3

**Коефіцієнти маси внутрішніх органів білих нелінійних щурів-самців та щурів-самок після внутрішньошлункового введення ін'єкційного препарату «Утеродев»,  $M \pm m$ ,  $n=5$**

Коефіцієнти маси органів, г / 100 г	Група тварин щурів-самців		Група тварин щурів-самок	
	Контрольна	Дослідна	Контрольна	Дослідна
Печінка	3,67±0,08	3,69±0,03	3,76±0,16	3,78±0,14
Права нирка	0,364±0,008	0,349±0,004*	0,331±0,018	0,322±0,008
Ліва нирка	0,356±0,004	0,363±0,003	0,325±0,011	0,336±0,011
Серце	0,359±0,005	0,371±0,010	0,359±0,016	0,358±0,014
Легені	0,457±0,022	0,430±0,008	0,798±0,043	0,789±0,057
Селезінка	0,483±0,026	0,488±0,027	0,434±0,048**	0,451±0,054
Наднирикові залози	0,027±0,002	0,026±0,002	0,028±0,002	0,028±0,001
Тимус	0,141±0,024	0,145±0,009	0,152±0,015***	0,153±0,015
Правий сім'яник	0,725±0,025	0,721±0,033	-	-
Лівий сім'яник	0,719±0,017	0,721±0,023	-	-

Примітки: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

Таким чином, індекс прямого подразнення шкіри склав 0 балів для досліджуваного об'єкту.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** За результатами експериментальних досліджень проведено кількісну оцінку параметрів гострої токсичності препарату «Утеродев» із визначенням величини напівлетальної дози (ЛД<sub>50</sub>) при внутрішньошлунковому введенні білим мишам та щурам. Доза становить вище 5000 мг/кг живої маси тіла. Дослідження гострої подразнювальної дії показали, що препарату «Утеродев» не викликає прямого подразнення шкіри у тварин. Згідно вимог СОУ 85.2-37-736:2011 та ГОСТу 12.1.007-76 результати досліджень дозволяють віднести ін'єкційний препарат «Утеродев» до IV класу небезпеки.

Подальші дослідження будуть черговим етапом передреєстраційних випробувань спрямованих на вивчення хронічної токсичності, ембріотоксичної і тератогенної дії ін'єкційного препарату «Утеродев».

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects [Electronic resource]. – <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>.
2. Закон України «Про ветеринарну медицину» від 25 червня 1992 р. №2498-ХІІ (зі змінами і доповненнями).
3. Косенко М.В. Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин: методичні рекомендації / М.В. Косенко, О.Г. Малик, І.Я. Коцюмбас та ін. – К., 1997. – 34 с.
4. Западнюк И.П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте: [Учебное пособие] / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк. – К.: Вища школа, 1983. – 383 с.
5. Коцюмбас І.Я. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / І.Я. Коцюмбас, О.Г. Малик, І.П. Патерега та ін.; за редакцією І.Я. Коцюмбаса. – Львів: Тріада плюс, 2006. – 360 с.
6. СОУ 85.2-37-736:2011 «Препарати ветеринарні. Визначення гострої токсичності» – К., Мінагрополітики України, 2011. – 16 с.
7. ГОСТ 12.1.007-76. ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности / ГОСТ 12.1.007-76. ССБТ. – [Введ. 1977-01-01; Изменен № 1; Переиздан 01.12.81]. – М.: Изд-во стандартов, 1982. – 6 с.

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И РАЗДРАЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ УТЕРОТОНИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА «УТЕРОДЕВ» / Сачук Р.Н., Жигалюк С.В., Кулинич О.В., Нечипоренко О.Л.

*По результатам исследований параметров острой токсичности препарата «Утеродев» установлено величину полужелудочной дозы (ЛД 50) при внутривенном введении крысам, которая составляла более 5000 мг/кг. Исследование острого раздражающего действия на морских свинках показали, что препарат «Утеродев» не вызывает прямого раздражения кожи у животных. Это позволило отнести инъекционный препарат «Утеродев» к четвертому классу опасности (в соответствии с требованиями СОУ 85.2-37-736: 2011 и ГОСТ 12.1.007-76).*

**Ключевые слова:** акушерско-гинекологические заболевания, пропаранолол гидрохлорид, острая токсичность, раздражающее действие, лабораторная животное, «Утеродев».

**DETERMINATION OF ACUTE TOXICITY PARAMETERS AND IMPROVING THE EFFECT OF UTERO-TONIC PREPARATION “UTERODEV” / Sachuk R.M., Zhyhaliuk S. V., Kulinich O.V., Nechyporenko O.L.**

**Introduction.** *The designed new injectable preparation “Uterodev” recommended for the stimulation of labor activity, atony and hypotension of the uterus, prophylaxis of postpartum complications (postponement delay, MMA syndrome, etc.), complex treatment of endometritis and metritis, fertilization improvement, obtaining embryos from donor cows, sows, sheep and goats should undergo preliminary tests on laboratory animals according toxicological parameters.*

**The goal of the work** was to determine the parameters of acute toxicity and improving the effect of utero-tonic preparation “Uterodev” on laboratory animals.

**Materials and methods.** *The study of acute toxicity of the injectable preparation “Uterodev” with the propranolol hydrochloride active substance was performed on 50 white inbred rat’s males and females weighing 190–220 g, kept in vivarium conditions. They were divided in experimental and control groups. The preparation was introduced intragastric in the dose ranged from 5000 to 25000 mg/kg of live weight. Calculation of median lethal dose (LD<sub>50</sub>) and other indicators was determined by Litchfield and Wilcoxon method modified by Roth (1963) and the method described in the publication "Preclinical studies of veterinary medications" (2006).*

**Results of research and discussion.** *Signs of intoxication in rats were not observed. Reflex excitability in all animals has been preserved. During experiment, deaths of the animals were not detected within 2 weeks. According to the research on “Uterodev” acute toxicity parameters, the LD<sub>50</sub> at intragastric administration into rats accounted for above 5000 mg/kg of body weight. Thus, the preparation “Uterodev” corresponds to the fourth class of danger (according to GOST (National State Standard) 12.1.007-76).*

*At “Uterodev” acute irritation, tests of the on the skin of guinea pigs there were not recorded erythema, scapular or edema in the animals. For the entire period of observations, thus the index of direct skin irritation was 0 points for the investigated object.*

**Conclusions and prospects for further research.** *According to the research of “Uterodev” acute toxicity parameters it was set the value of LD<sub>50</sub> at intragastric administration to rats was above 5000 mg/kg. This allowed attribute this preparation to the fourth class of danger. Investigations of acute irritant activity shown that “Uterodev” did not cause direct skin irritation in animals. Further studies will to be focused on the definition of chronic toxicity, embryotoxic and teratogenic properties of “Uterodev”.*

**Keywords:** *obstetric and gynecological diseases, propranolol hydrochloride, acute toxicity, irritant action , laboratory animals, “Uterodev”.*

**REFERENCES**

1. WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects [Electronic resource] – <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>.
2. Zakon Ukraini «Pro veterinarnu medicinu» vid 25 chervnja 1992 r. №2498-XII (zi zminami i dopovnennjami) [The Law of Ukraine of June 25, 1992 N 2498-XII «On veterinary medicine» (amended and supplemented)] [in Ukrainian].
3. Kosenko, M.V., Malik, O.G., & Kotsyumbas I.Ya. (1997). *Toksikologichnij kontrol' novih zasobiv zahistu tvarin: metodichni rekomendacii [Poison control of new means of protecting animals: guidelines]*. Kiev [in Ukrainian].
4. Zapadnyuk, I.P., Zapadnyuk, V.I., Zakhariya, E.A., & Zapadnyuk, B.V. (1983). *Laboratornye zivotnye. Razvedenie, sodержanie, ispol'zovanie v jeksperimente [Laboratory animals. Breeding, maintenance, use in the experiment]*. Tutorial. K.: Higher school, [in Russian].
5. Kotsyumbas, I.Ya., Malik, O.G., & Patereha I.P. et al. (2006). *Doklinichni doslidzhennja veterinarnih likars'kih zasobiv [Preclinical studies of veterinary medicinal products]*. Kotsyumbas, I.Ya. (Ed.). Lviv: Triad plus [in Ukrainian].

6. Preparaty veterynarni. Vyznachenja gostroi' toksychnosti [Veterinary preparations. Determination of acute toxicity]. *SOU 85.2-37-736 from 2011*. K., Ministry of Agrarian Policy of Ukraine [in Ukrainian].

7. Vrednye veshhestva. Klassifikacija i obshhie trebovanija bezopasnosti [Harmful substances. Classification and general safety requirements]. *GOST 12.1.007-76. SSBT from December 1, 1982*. Moscow: Publishing of Standards [in Russian].

**УДК 620.3:539:615.3**

**СИНИЦІН В.А.**, д-р вет. наук, e-mail: dny.cib@ukr.net,

**ЗАВІРЮХА Г.А.**, канд. с.-г. наук, e-mail: annazavir@gmail.com,

**ЯНЕНКО У.М.**, канд. вет. наук, e-mail: ulyanakuzyk@ukr.net,

**ЯВОРСЬКА К.В.**, e-mail: katkitchenko@gmail.com

*ДНУ «Державний центр інноваційних біотехнологій»*

## **СУЧАСНІ АСПЕКТИ ВИКОРИСТАННЯ НАНОКОМПОЗИТІВ ДЛЯ ВДОСКОНАЛЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ (оглядова стаття)**

*У статті узагальнені сучасні напрямки біотехнології застосування наночастинок та наноконструкцій при розробці та вдосконаленні лікарських препаратів для гуманної та ветеринарної медицини.*

*Аналіз експериментальних даних показав, що із застосуванням наноконструкцій покращується біодоступність препаратів, а також з'являється можливість контролю вивільнення ліків. Недостатньо вивченим лишається токсикологічний аспект застосування препаратів з наночастинками. На сучасному етапі одним із пріоритетних напрямків є розробка наноконструкцій з інтерфероном, що зменшують негативний вплив хвороботворних агентів на організм людей і тварин при застосуванні їх у терапії.*

**Ключові слова:** нанотехнологія, наночастинки, лікарські засоби.

**Вступ.** Нанотехнологія – одна з галузей сучасної науки, що найбільш інтенсивно розвивається. Застосування нано-розробок стає актуальним практично у всіх сферах нашого життя, багатьох галузях промисловості, а найбільше у фармацевтичній. На початку ХХІ століття в ЄС було маніфестовано напрямок – «Стратегія для Європи: Наука про життя і біотехнологія», що стала основою для європейських країн у розробці їх національних політик в області біотехнологій [1, 2].

Особливо актуальною для сьогодення є розробка та дослідження систем доставки ліків на основі наночастинок (НЧ). Адже саме системи цільової доставки медикаментів спроможні усунути недоліки дії препаратів, призвести до значного підвищення ефективності лікарських засобів. Вагому роль в означених процесах відведено НЧ. Завдяки малим розмірам такі структури легко проникають крізь природні бар'єри та навіть мембрани окремих клітин. Велика площа поверхні НЧ (квантових міток, дендримерів, фулеренів тощо) зумовлюють можливість утворення комплексів з численними біомолекулами, що забезпечить цільову доставку лікарського препарату до