

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

**О.С. ВОЛОШИНА  
М.М. АНТОНЮК**

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ  
ПОТЕНЦІЙНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

**КОНСПЕКТ ЛЕКЦІЙ  
для студентів напрямку 6.051401 «Біотехнологія»  
(спеціальність «Біотехнологія біологічно активних речовин»)  
денної та заочної форм навчання**

**СХВАЛЕНО**  
на засіданні кафедри  
біотехнології мікробного  
синтезу  
Протокол № 12  
від 16.03.2010 р.

**Київ НУХТ 2010**

**О.С. Волошина, М.М. Антонюк.** Методи дослідження потенційних лікарських засобів: конспект лекцій для студентів напряму 6.051401 «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання. . – К.: НУХТ, 2010. — 158 с.

**Рецензент** Пирог Т.П., д-р біол. наук

**О.С. ВОЛОШИНА**, канд. біол. наук,  
**М.М. АНТОНЮК**, канд. техн. наук

**Видання подається в авторській редакції**

**© О.С. Волошина,  
М.М. Антонюк, 2010  
© НУХТ, 2010**

## ЗМІСТ

<b>1.</b>	<b>ОСНОВНІ ПОНЯТТЯ ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ.....</b>	<b>6</b>
1.1	Отрути та їх класифікація.....	8
1.2	Інтоксикації та їх класифікація.....	9
1.3	Хіміко-токсикологічний аналіз.....	9
1.3.1	Особливості хіміко-токсикологічного аналізу.....	9
1.3.2	Проведення хіміко-токсикологічного аналізу.....	10
1.4	Основні закономірності поведження отрут в організмі.....	10
1.5	Шляхи виведення отрут з організму.....	14
1.6	Методи детоксикації.....	14
1.7	Метаболізм токсичних речовин.....	15
1.7.1	Фази метаболізму токсичних речовин.....	16
1.7.2	Класифікація метаболітів.....	18
1.7.3	Фактори впливу на метаболізм чужорідних речовин.....	18
1.8	Леткі отрути.....	20
1.8.1	Методи ізолювання летких отрут з біологічного матеріалу.....	21
1.8.2	Фізичні властивості та токсична дія деяких летких отрут.....	22
1.8.3	Кількісний аналіз летких отрут.....	27
1.9	Металічні отрути.....	28
1.9.1	Основні закономірності поведження” металічних” отрут в організмі.....	28
1.9.2	Сучасні методи мінералізації.....	30
1.9.3	Кількісне визначення металічних отрут.....	31
1.10	Лікарські отруєння.....	31
1.11	Судово-медична діагностика отруєнь.....	33
	Контрольні запитання.....	34
<b>2.</b>	<b>ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ.</b>	
	<b>ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА.....</b>	<b>34</b>
2.1	Алкалоїди.....	34
2.1.1	Деякі групи алкалоїдів.....	35
2.1.2	Токсична дія алкалоїдів.....	36
2.1.3	Поведження в організмі та метаболізм.....	38
2.1.4	Характеристика алкалоїдів.....	40
2.2	Вітаміни.....	43
2.2.1	Вітамін А.....	43
2.2.2	Вітаміни групи В.....	44
2.2.3	Вітамін D.....	45
2.2.4	Вітамін Е або $\alpha$ -токоферол.....	45
2.2.5	Вітамін К.....	46
2.3	Терпени.....	46
2.4	Стероїди.....	47
2.5	Антибіотики.....	48
2.6	Токсини.....	49
2.7	Пестициди.....	51

2.7.1	Класифікація пестицидів.....	51
2.7.2	Характеристика фосфорорганічних сполук (ФОС).....	52
2.7.3	Характеристика хлорорганічних сполук (ХОС).....	53
2.7.4	Методи дослідження об'єктів біологічного походження на ХОС та ФОС.....	54
2.8	Біологічно активні добавки.....	54
2.9	Феромони.....	56
	Контрольні запитання.....	57
<b>3.</b>	<b>ТОКСИКОЛОГІЯ</b> .....	<b>58</b>
3.1	Ветеринарна токсикологія.....	59
3.1.1	Параметри токсичності отруйних речовин.....	60
3.1.2	Токсикокінетика та токсикодинаміка отруйних речовин.....	66
3.2	Лабораторні тварини.....	67
	Контрольні запитання.....	69
<b>4.</b>	<b>ОСНОВИ ФАРМАКОЛОГІЇ</b> .....	<b>70</b>
4.1	Історія фармакології.....	70
4.1.1	Фармакологія та її напрямки.....	73
4.2	Основні поняття в фармакології.....	74
4.2.1	Види дії ліків.....	74
4.2.2	Принципи дозування ліків.....	76
4.2.3	Шляхи введення ліків.....	78
4.3	Біодоступність лікарських засобів.....	81
4.3.1	Транспорт через біологічні мембрани.....	82
4.4	Розподіл ліків в організмі.....	83
4.4.1	Фармакокінетика та фармакодинаміка лікарських засобів.....	84
4.4.2	Фактори, що впливають на фармакокінетику і фармакодинаміку лікарських засобів.....	85
4.5	Біотрансформація лікарських засобів.....	88
4.5.1	Метаболізм лікарських речовин.....	90
4.5.2	Екскреція лікарських засобів.....	95
4.6	Комбінована дія ліків.....	97
4.7	Механізм дії ліків.....	97
4.8	Класифікація лікарських засобів.....	100
	Контрольні запитання.....	101
<b>5.</b>	<b>ДОКЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПОТЕНЦІЙНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ</b> .....	<b>101</b>
5.1	Моделі в доклінічних дослідженнях.....	101
5.1.2	Альтернативні тест-системи.....	103
5.1.3	Статистична обробка даних.....	105
5.2	Проведення доклінічних досліджень безпечності та ефективності фармакологічних речовин.....	107
5.2.1	Акредитація лабораторій.....	108
5.3	Основні терміни та поняття.....	109
5.3.1	Вимоги до керівника установи, відповідального виконавця, персоналу, приміщень, обладнання та документації.....	110

5.3.2	Контроль якості досліджень.....	112
5.4	Організація та проведення випробувань за принципами GLP...	113
5.4.1	Впровадження GLP на Україні.....	114
5.5	Експериментальне дослідження загальнотоксичної дії потенційних лікарських засобів (доклінічні дослідження).....	114
5.5.1	Шляхи введення лікарських речовин.....	116
5.5.2	Вивчення “гострої” токсичності.....	117
5.5.3	Токсичність при повторних введеннях.....	125
5.5.4	Вивчення специфічної ефективності лікарського засобу.....	130
	Контрольні запитання.....	131
<b>6.</b>	<b>КЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ.....</b>	<b>131</b>
6.1	Історія становлення сучасних правил клінічних досліджень...	131
6.2	Проведення клінічних досліджень у відповідності до Правил GCP у країнах Європейського Співтовариства.....	133
6.3	Впровадження GCP в Україні.....	134
6.4	Проведення клінічних досліджень.....	134
6.4.1	Перша фаза клінічних досліджень.....	135
6.4.2	Друга фаза клінічних досліджень.....	138
6.4.3	Третя фаза клінічних досліджень.....	138
6.4.4	Четверта фаза клінічних досліджень.....	139
6.5	Контроль клінічних досліджень.....	140
6.6	Дослідження біоеквівалентності .....	140
6.7	Багатоцентрові клінічні дослідження.....	141
6.8	Обов'язки Спонсора клінічних досліджень та Дослідника.....	141
6.9	Контроль якості проведення клінічних досліджень.....	142
6.10	Оцінка безпечності та переносимості лікарського засобу.....	143
6.10.1	Негативні види дії ліків.....	143
6.10.2	Перинатальна фармакологія.....	145
6.11	Фармакологічний нагляд.....	147
6.12	Етичні комітети.....	147
6.13	Реєстрація лікарських засобів на Україні.....	148
6.14	Поняття «якість життя».....	149
	Контрольні запитання.....	150
<b>7.</b>	<b>НЕТРАДИЦІЙНІ МЕТОДИ В МЕДИЦИНІ.....</b>	<b>150</b>
7.1	Фармакологія в системі медичних та біологічних наук.....	150
7.2	Гомеопатія.....	152
7.3	Мануальна терапія.....	155
7.4	Рефлексотерапія.....	155
7.5	Фітотерапія.....	156
	Контрольні запитання.....	156
	<b>СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....</b>	<b>157</b>

# 1. ОСНОВНІ ПОНЯТТЯ ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ

**Токсикологічна хімія** — це наука, що вивчає методи виділення, очищення, виявлення та кількісного визначення отруйних і сильнодіючих речовин, а також їх метаболітів в об'єктах різноманітної природи: біологічному матеріалі тваринного і рослинного походження, викидах промислових підприємств у вигляді стічних вод, викидів в атмосферу і на ґрунт, у сільськогосподарській продукції та ін.

**Зв'язок з іншими дисциплінами.** Токсикологічна хімія — дисципліна, тісно пов'язана з:

- методами *аналітичної і фармацевтичної хімії*, які використовуються для ідентифікації та визначення отрут у біологічних об'єктах;
- *органічною хімією*, знання якої дає можливість проводити визначення органічних речовин за функціональними групами;
- *фізико-хімічними та біохімічними* методами аналізу, які займають головне місце в хіміко-токсикологічному аналізі і дозволяють вирішувати завдання щодо розробки нових методів аналізу отрут;
- *ботанікою*, знання якої допомагає аналізувати різні частини отруйних рослин з огляду на локалізацію в них отрут;
- *судовою хімією*, яка базується на відомостях *судової медицини і токсикології* при дослідженні біологічного матеріалу та визначенні механізму поведження отрут в організмі;
- *юриспруденцією*. Знання законів допомагає судовому хіміку виконувати свої обов'язки.

## **Завдання токсикологічної хімії:**

1. Розробка нових методів аналізу отрут і їх метаболітів у різноманітних об'єктах.
2. Розробка ефективних методів очистки витяжок, отриманих з об'єктів при хіміко-токсикологічному аналізі.
3. Впровадження в практику хіміко-токсикологічного аналізу нових чутливих і специфічних реакцій та методів виявлення токсичних речовин, виділених із відповідних об'єктів (хроматографії, спектроскопії, мас-спектрометрії та ін.).
4. Розробка і впровадження в практику хіміко-токсикологічного аналізу чутливих методів кількісного визначення токсичних речовин.
5. Вивчення метаболізму токсичних речовин в організмі.

**Хіміко-токсикологічний аналіз** — це сукупність науково обґрунтованих методів, що застосовуються на практиці для виділення, виявлення і кількісного визначення токсичних речовин.

Метою хіміко-токсикологічного аналізу різноманітних об'єктів є *надання допомоги суду і слідству* в справах розслідування вбивств або нещасних випадків; *медичній службі* – в порятунку життя людей та тварин;

екологічній службі – у боротьбі за чистоту води, ґрунту, їжі, повітря, що впливає на здоров'я людей. Зокрема, у наш час продукти харчування (овочі, молоко) досліджують на наявність отрутохімікатів.

**Розділи токсикологічної хімії.** Залежно від обраних для аналізу об'єктів і питань, що необхідно вирішити в ході аналізу, можна виділити такі розділи:

1. *Лабораторний експрес-аналіз гострих інтоксикацій* розглядає методи дослідження отруйних речовин, що виявлені в біологічних рідинах живих людей з метою надання допомоги лікарю в їх порятунку.

2. *Аналіз залишкових кількостей пестицидів* проводиться з метою дослідження наявності отруйних речовин у повітрі, воді, ґрунті, продуктах харчування для запобігання захворюванням, загибелі людей та тварин.

3. *Санітарно-хімічний аналіз* приділяє увагу методам дослідження отруйних викидів в атмосферу з метою запобігання професійним захворюванням людей.

4. *Судова хімія* вивчає методи дослідження в біологічному матеріалі отруйних речовин, що спричинили загибель людини, та різних речових доказів (засоби вбивства, гроші, цінності, одяг — усе, що використовується в ході розслідування справи).

**Об'єкти аналізу в токсикологічній хімії.** Об'єктами хіміко-токсикологічного аналізу є біологічні рідини, внутрішні органи трупів, харчові продукти, фураж, предмети домашнього вжитку, залишки лікарських речовин, пестицидів і предметів побутової хімії, посуд, повітря, ґрунт, одяг.

Об'єкти хіміко-токсикологічного аналізу можна розділити на такі групи:

- об'єкти, вилучені з трупів осіб, що померли в результаті отруєнь, (тканини й органи трупів, біологічні рідини — кров, сеча, блювотні маси та ін.).

- об'єкти, взяті від живих осіб, які вжили несмертельні дози отруйних речовин (кров, сеча, промивні води шлунка, блювотні і калові маси).

Перераховані вище об'єкти хіміко-токсикологічного аналізу є біологічним матеріалом.

- об'єкти, що могли бути причиною отруєнь (харчові продукти, вода, напої, рослини, медикаменти, різноманітні хімічні речовини, повітря житлових і робочих приміщень, у яких перебували потерпілі до отруєння).

- частини одягу, плями на одязі, флакони з-під ліків, посуд, з якого були вжиті отруйні речовини, та інші об'єкти, а також предмети, що зберегли на собі сліди злочинів.

## 1.1 Отрути та їх класифікація

**Отрути** — це хімічні сполуки, що за певних умов (надмірна доза, реакція конкретного організму та ін.) можуть шкідливо впливати на людей і тварин, порушувати життєво важливі функції організму, викликати патологічні зміни, в тому числі і летальні.

Отрути поділяються на дві групи: **загальні** (засновані на загальному принципі оцінки) і **спеціальні** (відображають зв'язок властивостей речовин з проявами їх токсичності).

### **Загальна класифікація отрут:**

*хімічна* — за хімічною будовою (органічні, неорганічні й елементоорганічні речовини);

*практична* — за метою застосування (промислові отрути, отрутохімікати, лікарські засоби, побутова хімія, біологічні, отрути рослинного і тваринного походження та бойові отруйні речовини);

*гігієнічна* — за ступенем токсичності (надзвичайно токсичні, високотоксичні, помірно токсичні, малотоксичні);

*токсикологічна* — за видом токсичної дії (нервово-паралітична, на шкірно-резорбтивна, загальнотоксична, сльозоточива і подразнююча, психотична);

*вибірково токсичні* — серцеві, нервові, печінкові, ниркові, кров'яні і шлунково-кишкові отрути.

### **Спеціальна класифікація отрут:**

*патофізіологічна* — за типом гіпоксії, яку викликає отрута;

*патохімічна* — за механізмом взаємодії з ферментними системами;

*біологічна* — за характером біологічного наслідку отруєнь;

*канцерогенна* — за ступенем канцерогенної активності отрути.

**Класифікація отрут, основана на методах ізолювання** з біологічного матеріалу:

- «*леткі*» отрути — речовини, що ізолюються шляхом перегонки (спирти, фенол, альдегіди, галогеновмісні вуглеводні).
- «*металічні*» отрути — речовини, що ізолюються методом мінералізації біологічного матеріалу (цинк, марганець, ртуть).
- «*лікарські*» отрути — речовини, що ізолюються полярними розчинниками (підкисленою водою або спиртом), — барбітурати, алкалоїди та ін.
- *пестициди* (отрутохімікати) — речовини, що ізолюються органічними розчинниками (хлоро- і фосфоровмісні отрутохімікати).
- *речовини, що ізолюються методом екстракції водою*, — деякі солі, луги, кислоти.
- *речовини, що ізолюються особливими методами*, — фториди.
- *речовини, що аналізуються без ізолювання*, — чадний газ, сірководень.



## 1.2 Інтоксикації та їх класифікація

**Інтоксикація** - це порушення життєво важливих функцій організму під дією отрути.

Класифікація інтоксикацій, як захворювань хімічної етіології:

### **1. Етіопатогенетичні класифікації інтоксикацій:**

- за умовами розвитку — випадкові (самолікування, передозування, - алкогольна або наркотична інтоксикація, нещасний випадок або аварія на виробництві, в побуті) і навмисні (суїцидальні та кримінальні);
- за місцем розвитку — виробничі (професійні) і побутові;
- за шляхом надходження отрути — пероральні, інгаляційні, перкутальні, ін'єкційні та порожнинні;
- за походженням отрут — лікарські, промислові, алкогольні, наркотичні.

### **2. Клінічні класифікації інтоксикацій:**

- за особливостями клінічного перебігу (гострі, хронічні, підгострі);
- за тяжкістю захворювання (стан тяжкий, стан стабільний);
- за наявністю ускладнень;
- за кінцевим результатом захворювань (хронічні захворювання, викликані інтоксикацією).

### **3. Нозологічна класифікація інтоксикацій:**

- за назвою окремих отрут, їх груп і класів — інтоксикації метиловим спиртом, чадним газом, барбітуратами, алкалоїдами, отрутохімікатами, отрутами рослинного і тваринного походження і т.д.

## 1.3 Хіміко-токсикологічний аналіз

### **1.3.1 Особливості хіміко-токсикологічного аналізу**

*Різноманітність об'єктів аналізу.* Об'єктами хіміко-токсикологічного аналізу є біологічні рідини, внутрішні органи трупів, харчові продукти, фураж, предмети домашнього вжитку, залишки лікарських речовин, пестицидів і предметів побутової хімії, посуд, повітря, земля, одяг.

*Досить великі наважки (100 г) порівняно з малою кількістю аналізованих отрут ( $10^{-5}$  -  $10^{-6}$  г).* Аналіз слідів отрут призводить до необхідності обирати найбільш чутливі методи.

*Необхідність проведення дослідження не хімічно індивідуальних речовин, а їх сумішей.* У ході хіміко-токсикологічного аналізу біологічного об'єкта виділяється не чиста речовина, а суміш отрут з їх метаболітами, залишками білків, жирів, пігментів, тому очистка від супутніх речовин і розділення речовин та їх метаболітів — важливі етапи дослідження.

*Оцінка результатів аналізу.* В організмі у нормі знаходяться речовини, які у великих дозах можуть спричинити хворобу і навіть смерть. Так, наприклад, до складу ферментів входять цинк, марганець, що забезпечують нормальні фізіологічні функції організму, а у великих дозах ці елементи є отрутами.

### 1.3.2 Проведення хіміко-токсикологічного аналізу

Хіміко-токсикологічний аналіз починають із ознайомлення з матеріалами справи й складання плану дослідження. План аналізу залежить від питань, що їх ставить слідство (наявність документів, обставини справи, акт судово-медичного дослідження, історія хвороби).

План хіміко-токсикологічного аналізу:

а) зовнішній огляд об'єкта:

— характер об'єкта (склад і властивості речовини — рідина, порошок, аморфна речовина);

— наявність запаху (бензойний альдегід і синильна кислота мають запах гіркого мигдалю);

— властивості біологічного матеріалу — при наявності ознак гниття запах аміаку і сірководню буде маскувати запах отрути;

— наявність забарвлення — вміст шлунка синьо-зеленого кольору припускає наявність солей міді; жовтого — солей хрому або азотної кислоти;

б) визначення рН середовища:

рН = 2 – наявність мінеральних і органічних кислот;

рН = 4-6 – слабкі органічні кислоти і солі важких металів;

рН = 8 – аміак, луги, солі лужних металів та вугільної кислоти, що встановлюється після додавання  $\text{BaCl}_2$  і фенолфталеїну.

### 1.4 Основні закономірності поведінки отрут в організмі

Організм людини — складна система, що переробляє різноманітні речовини, які надходять ззовні. Вони поділяються на властиві нашому організму і чужорідні (так звані ксенобіотики).

Речовини, властиві нашому організму, — це білки, жири, вуглеводи, вітаміни, які є джерелом енергії, матеріалом для створення нових клітин і тканин, тобто життєво необхідні організму.

Отруєння – це патологічний процес, що виникає в результаті впливу на організм отруйних речовин різного походження, які надходять з їжею, водою, повітрям через органи дихання, шкіру, шлунково-кишковий тракт.

**Шляхи надходження отрут в організм.** Основні шляхи надходження речовин до організму — через рот, легені, шкіру, слизові оболонки, плаценту.

При надходженні *через рот* всмоктування починається вже у ротовій порожнині (фенол, нікотин, спирт), але більшість отрут у молекулярному стані всмоктується в шлунку і кишечнику. У шлунку (рН близько 4) у молекулярному стані всмоктуються речовини кислого характеру (саліцилова кислота, барбітурати), у кишечнику (рН 7—8) всмоктуються речовини основного характеру (алкалоїди, азотовмісні синтетичні речовини).

Через *легені* потрапляють леткі речовини (ацетон, хлороформ, чадний газ), сполуки ртуті (всмоктуються крізь мембрани альвеол шляхом дифузії).

Через *шкіру* потрапляють речовини, добре розчинні у ліпідах (нікотин, пестициди, солі ртуті).

*Парентеральне введення* речовин, тобто, поза шлунково-кишковим трактом, дає можливість уникнути впливу соків травлення. За швидкістю дії ліків способи парентерального введення розташовуються таким чином: внутрішньошкірний, підшкірний, внутрішньом'язовий, інгаляційний, внутрішньовенний, внутрішньоартеріальний.

Речовини всмоктуються і потрапляють у кровоток та лімфу, циркулюють в організмі і проникають у клітини через систему мембран. Мембранні системи організму мають схожу будову, але відрізняються за функціональними властивостями. Вони являють собою структури, утворені білково-фосфоліпідними комплексами, мають обмежену проникність для різних сполук. Основна гіпотеза будови мембрани – це гіпотеза тришарової мембрани Доусона—Даніеллі: між двома білковими шарами, з яких один повернений в бік цитоплазми, а другий — назовні клітини, міститься подвійний шар ліпідів. На ліпідних шарах із «плаваючими» в них білками знаходиться карбогідратна «шуба», що складається з різних олігосахаридів, полімерів, які включають десятки типів моносахаридів, у тому числі й глюкозу. Однією з важливих функцій цієї «шуби» є спроможність «відрізнити» клітини власного організму від чужорідних.

Молекули фосфоліпиду орієнтовані в бік білка, а гідрофобні поверхні прилягають. Товщина кожного шару 2—3 нм. Є припущення, що в клітинних мембранах існують ультрамікроскопічні пори (канали), утворені гідрофільною речовиною у ліпідних частинах, причому мембрани і пори мають певні електричні заряди. Механізм проходження речовин крізь мембрани складний, тому що на нього впливають не тільки самі мембрани, але й протоплазма та клітинні білки.

### ***Транспорт речовин в організмі.***

**Тип 1** — характерний для нейтральних молекул. При цьому найшвидше через мембрану дифундують молекули речовин, що мають високий коефіцієнт розподілу олія/вода, тобто ліпофільні властивості. Розчинні в ліпідах речовини (наприклад, наркотичні) можуть вільно, з мінімальними затратами енергії проходити крізь клітинні мембрани за законами *дифузії*.

Коефіцієнт дифузії отрути або лікарської речовини залежить від їх молекулярної маси, ступеня розчинності в ліпідах, іонізації та просторової конфігурації молекули. Більші молекули, наприклад білки, проникають крізь ці мембрани через щілини або шляхом піноцитозу (везикулярного транспорту). При цьому мембрана утворює заглиблення, немовби цілком обволікає всю молекулу, що знаходиться всередині клітини у вигляді пухирця, який мігрує до інтерстиціальної рідини або, рідше, у судину.

**Тип 2** трансмембранного транспорту пов'язаний із певними структурами, що забезпечують речовинам більш інтенсивну дифузію. Ці властивості мають деякі ділянки мембрани. Молекула, що транспортується

зворотно, з'єднується з носієм у мембрані, який вільно рухається (осцилює) між внутрішньою і зовнішньою її поверхнями. Прикладом є транспорт глюкози в еритроцитах людини.

**Тип 3** трансмембранного транспорту пов'язаний із споживанням енергії, що утворюється в результаті метаболізму аденозин-трифосфornoї кислоти (АТФ) у самій мембрані. Припускають, що при цьому так званому *активному транспорті* молекула речовини з'єднується з носієм, який зазнає певних хімічних перетворень. Наприклад: процеси транспорту іонів калію в клітинах ссавців, усмоктування й виведення речовин в іонізованій формі нирковими каналцями та ін. Носіями звичайно служать ферменти, наприклад, калій- і натрійзалежна аденозинтрифосфатаза, що забезпечує активний транспорт цих іонів. В останні роки виявлено групу чужорідних речовин, названих іонофорами, що здатні змінювати бар'єрну функцію мембран і переносити крізь них тисячу іонів за секунду. Іонофори виробляються деякими мікроорганізмами (наприклад, антибіотик валіноміцин), що використовуються в боротьбі за існування з іншими формами життя. В наш час проводиться керований хімічний синтез нових речовин, яким властива надзвичайна вибірковість щодо перенесення певних іонів.

**Тип 4** трансмембранного транспорту стосується дифузії через пори, у стінках яких є позитивно заряджені частки, що пропускають тільки аніони. Проте існують канали, що пропускають неелектроліти. Про максимальну величину цих каналів можна судити за розмірами найбільшої молекули, яку вони спроможні пропустити. Мембрани ниркових клубочків людини в нормі можуть пропускати всі молекули, менші за молекули альбуміну (молекулярна маса 70 000).

Отже, у мембранах цього типу транспорт речовин здійснюється за принципом *фільтрації*. Деякі природні отрути, наприклад, тетрадоксин, батрахотоксин, що знаходяться в яєчниках риб родини голкочеревних, виявлено в маленькій колумбійської жаби. Вони своєю молекулою впливають на прохідність каналів. Перший з них може повністю, як пробкою, «закупорити» іонний канал для натрію, другий – ушкодити механізм закриття «воріт» цих каналів і вони втрачать здатність вибірково пропускати іони. Молекули деяких іонофорів, зокрема антибіотика грамїцидину А, рухаючись у мембрані, часом «прошивають» її наскрізь і створюють подібність штучного насоса, здатного пропускати іони. Ці дані мають велике значення для пояснення механізму дії багатьох отрут, які вибірково впливають на провідність нервового імпульсу в синапсах.

### ***Зв'язування отрут в організмі.***

Речовини, що потрапляють до живого організму надходять до органів та клітин завдяки току крові та лімфи. Їх зв'язування залежить від складу та функцій тканин органів, від здатності розчинятися в жирах та воді (гідрофільності та ліпофільності). Так, пестициди добре розчинні в жирах і легко потрапляють у мозок, сальник, де спостерігається найбільший вміст

жирів. Важкі метали (ртуть, вісмут, миш'як та ін.) зв'язуються з функціональними групами білків.

Суттєве значення має тривалість введення отрути до організму. Наприклад, через 1—2 год після надходження ртуті та миш'яку до організму, ці речовини виявляються в печінці та нирках; при довготривалому надходженні – ртуть знаходиться в клітинах нервової системи, миш'як — у волоссі.

### ***Умови, що впливають на дію отрути в організмі.***

#### ***1. Умови, що залежать від самої отрути:***

- доза (кількість речовини). Будь-яка речовина в малих дозах може діяти як ліки, а в великих – виявляти токсичну дію, отруєння та смерть;
- розчинність. Речовини, які не розчиняються в шлунку та кишківнику, не викликають отруєнь (наприклад,  $Hg_2Cl_2$  (каломель) – неотруйна, а розчинна сіль ртуті  $HgCl_2$  (сулема) – є сильною отрутою);
- фізичний стан отрути. Найшвидшу дію виявляють газоподібні отрути, так як вони всмоктуються безпосередньо в кров у великих кількостях. При надходженні через рот отрута діє швидше, якщо вона знаходиться в розчиненому стані;
- концентрація отрути. Розведена соляна кислота застосовується як лікарський засіб для хворих з нульовою кислотністю шлункового соку, концентрована – може викликати смерть через опіки стравоходу та шлунку;
- речовини, введені разом з отрутою можуть як підсилювати дію отрути (лужне середовище для миш'яку, кисле – для сполук ціаністого калію), так і послаблювати – при наявності їжі, багатой на білки;
- тривалість зберігання отрут і ступінь розкладання отруйної речовини (ціаністий калій при тривалому зберіганні під впливом вуглекислого газу повітря перетворюється на поташ ( $K_2CO_3$ ), який не є отрутою, а має лише незначну послаблюючу дію).

#### ***2. Умови дії отрути, що залежать від організму людини:***

- вік. Дитячий організм, як і організм людей похилого віку дуже чутливий до дії отруйних речовин;
- стан здоров'я. Виснажені важкою працею, хворі на хронічні захворювання швидше і гостріше сприймають дію отрути;
- вага. Смертельна доза отрути прямо пропорційна вазі людини;
- стать. Жінки більш чутливі до дії отрути;
- наркомани та алкоголіки. Спостерігається підвищена чутливість до дії антибіотиків, новокаїну, але може бути знижена чутливість до речовин, що використовуються в хірургії для анестезії;
- кумуляція отрути в організмі.

#### ***3. Умови дії отрути, що залежать від зовнішнього середовища:***

- висока температура навколишнього середовища та підвищена вологість сприяють швидшому отруєнню оксидом вуглецю (CO). Низька температура може прискорити отруєння через зниження реактивних сил організму, але при сп'янінні холод сприяє швидшому витверезінню.

## 1.5 Шляхи виведення отрут з організму

Основними шляхами виведення речовин та їх метаболітів з організму є нирки, легені, слина, кишечник. Так, етанол виводиться із сечею, слиною, з повітрям, що видихається легенями.

Через нирки виводяться речовини, розчинні у воді, переважно у вигляді іонів. Якщо реакція сечі слабокисла, то більше виводиться органічних основ (алкалоїдів), якщо слабко лужна – легше виводяться речовини кислого характеру (барбітурати).

Через кишківник виводяться речовини, які розчиняються за допомогою жовчі і з жовчю виділяються з печінки.

Легені — органи виділення летких речовин (ефір, ацетон, бензол).

Через шкіру, тобто через потові залози, виводяться легкі речовини і солі важких металів.

## 1.6 Методи детоксикації

*Детоксикація* — це процес знешкодження отрут і прискорене видалення їх з організму.

Звільнення організму від отрут відбувається внаслідок посилення відповідних природних фізіологічних процесів (викликання блювання, промивання шлунка, очищення кишок, форсований діурез, гіпервентиляція), штучної детоксикації (гемодіаліз, перитоніальний діаліз, гемосорбція, обмінне переливання крові) або методами антидотної терапії.

*Викликання блювання.* Зі шлунка частину отрути можна вивести з блювотними масами, тому при отруєнні деякими групами отрут необхідно викликати рефлексорне блювання.

*Промивання шлунка.* Метод широко використовується при отруєнні отрутами різноманітної природи. Для цього за допомогою зонда в шлунок вводять близько 1 л води з додаванням невеликої кількості калію перманганату і викликають блювання. Після промивання шлунка хворим призначають проносні засоби.

*Форсований діурез* — це метод прискореного виведення з організму токсичних речовин, які виділяються із сечею. Хворому внутрішньовенно вводять 1,5—2 л ізотонічного розчину натрію хлориду, 5 %-вого розчину глюкози і для стимуляції діурезу — діуретичні засоби.

Швидкість виведення деяких отрут залежить від значення рН сечі. Цей метод малоефективний у випадках, коли отрути зв'язані з білками міцними зв'язками, а також, якщо належать до жиророзчинних речовин.

*Гіпервентиляція.* До цього методу вдаються при отруєнні леткими отрутами, що повністю виділяються з організму легенями з повітрям. Для гіпервентиляції застосовують апарат штучного дихання. Гіпервентиляція необхідна при отруєнні спиртами, ацетоном, хлороформом і оксидом вуглецю (II).

*Гемодіаліз.* Метод прискороного виведення отруйних речовин, який базується на явищі діалізу. Гемодіаліз проводять за допомогою апарату «штучна нирка». Використовується при отруєнні речовинами невеликої молекулярної маси: барбітуратами, хлордіазепоксидом, етиленгліколем, метиловим спиртом, чотирихлористим вуглецем, оцтовою кислотою, похідними фенотіазину, розчинними солями ртуті, миш'яку, свинцю та ін.

*Перитоніальний діаліз.* Метод базується на введенні у черевну порожнину спеціального розчину, в який із крові шляхом діалізу переходять токсичні речовини. При цьому напівпроникною мембраною слугує діафрагма, яка має велику поверхню. В якості діалізуючих рідин використовують суміші розчинів калію, натрію, кальцію, хлоридів магнію, глюкози у відповідних співвідношеннях.

*Гемосорбція.* Метод базується на поглинанні отруйних речовин, що знаходяться в крові, різноманітними сорбентами. Як сорбенти використовують переважно активоване вугілля або іонообмінні смоли.

*Обмінне переливання крові.* Цей метод базується на заміщенні крові хворого кров'ю донора.

*Антидотна терапія.* Використання антидотів — ефективний метод детоксикації організму тільки на ранніх стадіях отруєння. Як антидот часто використовують активоване вугілля, а також групу речовин, які хімічно взаємодіють з отрутами, внаслідок чого відбувається інактивація отруту і перетворення їх на нетоксичні речовини, що виділяються з організму із сечею і калом.

Крім вищенаведених, існують й інші методи детоксикації організму, застосування яких залежить від природи отрути, що надійшла до організму.

## **1.7 Метаболізм токсичних речовин**

Ксенобіотики (чужорідні хімічні речовини), що надходять в організм, можуть активно втручатися в хід нормальних і патологічних процесів, що обумовлює їх поведження або як отрут, або як ліків.

В основі перетворень ксенобіотиків лежить вплив на них ферментів організму, тобто метаболізм. Речовини, що утворюються в результаті метаболізму (метаболіти), характеризуються зміною хімічного складу та властивостей. Вони можуть бути більш або менш токсичними від нативної речовини.

У процесі метаболізму ксенобіотики стають більш полярними, тобто набувають більшої спорідненості з водою (стають гідрофільними). Такі метаболіти краще розчиняються у водному середовищі і швидше виводяться із організму з сечею. Чим менше гідрофільна речовина (тобто, більш ліпофільна), тим триваліший час вона знаходиться в організмі і складніше метаболізується та виводиться з організму.

Метаболіти, порівняно з нативними речовинами, легше іонізуються, тому й термін їх існування у вигляді водорозчинних солей більший, що також полегшує їх виділення з організму із сечею. В основному метаболіти

менш токсичні, ніж нативні речовини. Тому метаболізм вважається одним із шляхів детоксикації отрут.

Вивчення метаболізму лікарських речовин – актуальне питання для різних спеціалістів. Лікарі вбачають у метаболізмі не лише шлях детоксикації отрут з організму, але й фактор, що впливає на терапевтичний рівень вмісту ліків, а також тривалість їх дії в організмі і тканинах. Хіміки-токсикологи вивчають метаболізм речовин з ряду причин:

- деякі лікарські речовини й отрути метаболізуються з великою швидкістю, тому можуть бути виявлені тільки у вигляді метаболітів;

- з огляду на те, що за фізичними і хімічними властивостями метаболіти відрізняються від нативних речовин, необхідно розробляти для них індивідуальні методи виділення з біологічного матеріалу, інакше метаболіти можуть бути втрачені;

- для повної оцінки дії отрути, що спричинила захворювання або загибель організму, необхідні ідентифікація й визначення дії як нативної отрути, так і її метаболітів.

Проте метаболізм багатьох лікарських речовин вивчений недостатньо або взагалі не досліджений. Це пов'язано зі значними *складнощами в дослідженні метаболізму*:

- метаболіти містяться в біологічному матеріалі в дуже малих кількостях, що ускладнює їх виділення та ідентифікацію;

- якщо вдається виділити метаболіти, то їх кількості недостатньо для аналізу складу, дослідження фізичних і хімічних властивостей.

Більшість лікарських речовин *метаболізуються у печінці*, де є цілий набір ферментних систем, що характеризуються великою потужністю і широкою специфічністю. Ці системи локалізовані в *мітохондріях, лізосомах клітин печінки*. Метаболіти з печінки із жовчю надходять до кишківника і виводяться з калом або надходять у нирки й виводяться із сечею.

Метаболізм також частково відбувається в нирках, кишечнику, легенях та ін. Крім власних ферментів, у нашому організмі під впливом різних чужорідних речовин можуть утворюватися нові. Отже, ці індуковані ферменти будуть специфічними до речовин, що спричинили їх виникнення.

Метаболізм лікарських речовин класифікують:

- за фармакологічними властивостями метаболітів;

- за спрямованістю і результатами метаболічних процесів;

- за типом хімічних процесів, що лежать в основі метаболізму речовин.

### ***1.7.1 Фази метаболізму токсичних речовин***

**Фаза I метаболізму** полягає в специфічній зміні молекул нативної речовини з утворенням нових функціональних груп, які підвищують спорідненість метаболіту з водою, тобто їх гідрофільність.

До I фази метаболізму можна віднести такі біохімічні механізми як окиснення, відновлення, гідроліз, дезалкілування та ін.



**Окиснення** відбувається за основними напрямками, з огляду на хімічні властивості нативних речовин:

а) спирти і альдегіди – до альдегідів та карбонових кислот. Ці процеси відбуваються в печінці, нирках, легенях, де окиснення спиртів протікає під впливом алкогольдегідрогеназ;

б) гідроксилування ароматичних і циклічних речовин (оксидази: бензол → фенол → саліцилова кислота → діоксибензойна кислота → циклогексан → циклогексанол);

в) гідроксилування радикалів ароматичних речовин (толуол → бензиловий спирт → бензойна кислота);

г) гідроксилування аміногрупою ароматичних речовин (анілін → фенілгідроксиамін → нітрозобензол).

**Відновлення** відбувається під впливом редуказ. Основні напрямки, зворотні процесам окиснення: нітробензол → анілін

**Гідроліз**, характерний для складних ефірів.

**Дезалкілування** — відщеплення алкільних груп (може відбуватися в різних напрямках, проте легше відщеплюються групи, зв'язані з атомами N, O, S).

а) N- і O-дезалкілування: кодеїн → морфін → норморфін;

б) дезалкілування: тіоефіри → тіоспирти та альдегід;

в) дезамінування — відщеплення групи  $-NH_2$  з утворенням аміаку;

г) десульфурвання — відщеплення сірки із заміною на атом кисню: тіобарбітал → барбітал.

**Фаза II метаболізму** полягає в утворенні, тобто біосинтезі, ендогенних сполук (*кон'югатів*), більш полярних і добре розчинних у воді, які є менш токсичними та швидше виводяться із сечею, ніж інші метаболіти. Тому саме фаза II метаболізму називається *фазою детоксикації*.

В реакцію кон'югації вступають:

а) глюкуронова кислота (утворюються глюкуроніди в печінці, нирках, шкірі, кишечнику).

Утворюються глюкуроніди за спиртовими, аміно-, карбоксильними групами;

б) сульфати — характерні для фенолів, спиртів з утворенням складних ефірів;

в) гліцинароматичними кислотами.

**Реакції алкілування (метилування)** — N-; S- ; O-метилування - характерні для амінів, фенолів, тіолів.

**Ацетилювання** — основний шлях метаболізму ароматичних амінів, амінокислот.

У здійсненні фаз метаболізму чіткої послідовності немає. Нативні речовини можуть відразу, минаючи фазу I, метаболізуватися за фазою II. Якщо в молекулі нативної речовини є кілька функціональних груп, то відбуваються одночасно процеси обох фаз метаболізму. Швидкість метаболізму різних ксенобіотиків не однакова і не завжди метаболізм

доходить до кінця, тому одні речовини майже не метаболізують, а інші дають тільки метаболіти. Наприклад: новокаїн за добу може повністю метаболізуватися, а фенобарбітал майже не дає метаболітів і довго виводиться з організму.

Метаболіти, утворені в результаті процесів окислення і відновлення, активні у фармакологічному відношенні. Найбільший інтерес представляють метаболіти, які утворюються у процесі дезалкілування. Розрив азепінового кільця та утворення глюкуронідів призводить до втрати ними фармакологічної активності. Поряд із нативними сполуками метаболіти виявляються в різних тканинах організму.

### **1.7.2 Класифікація метаболітів**

• *Класифікація метаболітів за фармакологічними властивостями:*

1. Утворення менш токсичних метаболітів, ніж нативні речовини:  
новокаїн → п-амінобензойна кислота → діетиламіноетанол
2. Утворення більш токсичних метаболітів, ніж вихідні речовини:  
метанол → формальдегід
3. Утворення метаболітів, що викликають летальні випадки:  
фтороцтова кислота → фторлимонна кислота  
(нетоксична) (отрута)
4. Метаболіти, активні у фармакологічному відношенні більше, ніж нативні речовини:  
фенацетин → парацетамол → оцтовий альдегід

• *Класифікація метаболітів за спрямованістю і результатами метаболічних процесів*

*Анаболізм* — утворення в результаті метаболізму більш складних молекул, на що витрачається енергія організму.

*Катаболізм* — розпад молекул вихідної речовини на окремі частини, тобто детоксикація.

Проте ці терміни не завжди вірні для всіх випадків метаболізму. Так, переобтяження молекул у результаті утворення глюкуронідів веде до детоксикації речовини, а розпад нативної речовини — до утворення активних і токсичних метаболітів.

### **1.7.3 Фактори впливу на метаболізм чужорідних речовин**

1. Хімічна взаємодія між лікарськими речовинами.

У результаті взаємодії різних лікарських засобів (судинорозширювальних, седативних та ін.) лікар намагається домогтися ефективного і швидкого лікування, але можлива хімічна взаємодія речовин з утворенням нових, не активних у лікувальному плані, малотоксичних речовин. Так, гепарин і його антагоніст протамін утворюють неактивні, нетоксичні і малодисоційовані сполуки.

2. Інгібітори та індуктори ферментів.

*Індуктори* — це ксенобіотики, що посилюють активність ферментів організму, чим прискорюють метаболізм інших ксенобіотиків (лікарських засобів). Наприклад, барбітурати активують метаболізм левоміцетину, аміназин — метаболізм стероїдних гормонів, бутадіон — метаболізм амідопірину.

*Інгібітори* — ксенобіотики, що знижують активність ферментів, тобто збільшують тривалість впливу на організм. До них відносять морфін, фенамін, які інгібують оксидази печінки. На цьому ґрунтується дія деяких лікарських засобів: аміназин посилює дію антидепресантів, що використовуються для лікування хворих з ураженою психікою.

### 3. Харчування, вік.

Склад і стабільність їжі, голодування або його відсутність — усе це впливає на діяльність кишкових бактерій, які містять фермент 3-глюкуронідазу, і розкладають глюкуроніди. Активно діють кишкові бактерії при розпаді складних ефірів, глікозидів, сірчаноокислих ефірів. Завдяки бактеріям фталазол розпадається в товстому кишечнику до більш активного норсульфазолу.

Дієта істотно впливає на метаболізм ксенобіотиків, викликаючи його зниження. Це обумовлено зменшенням вмісту в їжі білків, що, у свою чергу, знижує активність ферментів (оксидаз), уповільнюється виведення ліків з організму, збільшуються тривалість їх дії.

З віком змінюється характер метаболізму, його швидкість, зменшується маса печінки, змінюються форма клітин печінки та їх біохімічна активність.

Наприклад, у молодому віці метаболізм ізоніазиду відбувається шляхом ацетилювання, а у похилому — шляхом окислення.

### 4. Патологічні стани.

Патологічні стани (гепатит, нефрит, опромінення, замерзання) знижують активність кишкових бактерій, оксидаз у печінці, внаслідок чого зменшується метаболізм і збільшується тривалість дії лікарської речовини, підвищується токсичність речовин.

### 5. Вплив алкоголю, тютюну, пестицидів.

Алкоголь, крім спричинення наркотичної і токсичної дії, може взаємодіяти з ліками в організмі. У мінімальних кількостях етанол, синтезуючись у тканинах організму, є метаболітом. Якщо алкоголь тривалий час, у великих кількостях (дозах) вводиться в організм, то вражається печінка і знижується метаболізм речовин. Алкоголь посилює дію барбітуратів, 1,4-бензодіазепінів, саліцилової кислоти.

Токсичний ефект нікотину проявляється в тому, що в організмі курців знижується сила анальгетичної дії різних речовин: седативної дії аміназину, заспокійливої дії 1,4-бензодіазепіну, тому що прискорюється виведення їх з організму і здійснюється індукція ферментів.

Хлороорганічні пестициди індукують активність ферментів, що знижують дію барбітуратів. У свою чергу, в осіб, що лікуються барбітуратами (фенобарбіталом), швидкість метаболізму пестицидів підвищується і знижується їх вміст в організмі.

## 1.8 Леткі отрути

Леткі отрути — це токсичні речовини, що ізольовуються з біологічного матеріалу дистиляцією (перегонкою) з водяною парою та іншими методами і характеризуються леткістю (табл. 1).

Таблиця 1

### Леткі отрути

Клас сполук	Отрута
Кислоти	синильна, оцтова
Галоїдопохідні аліфатичного ряду	хлороформ, чотирьохлористий вуглець, дихлоретан, хлоралгідрат
Альдегіди і кетони	формальдегід, ацетон
Спирти	метиловий, етиловий, ізоаміловий, етиленгліколь
Складні ефіри	оцтово-етиловий, оцтово-аміловий
Ароматичні вуглеводи та їх похідні	бензол, толуол, ксилол, анілін
Феноли і фенолокислоти	фенол, саліцилова кислота
Сполуки свинцю	тетраетилсвинець (ТЕС)
Сполуки сірки	сірковуглець
Фосфор і речовини, отримані після його -окислення -відновлення	фосфорні кислоти фосфористий водень

Зазначені речовини є високотоксичними (табл. 2). Вони доступні, тому що широко використовуються в промисловості, сільському господарстві, медицині. Наприклад, у медицині (хлороформ, етанол, фенол, ефір); у сільському господарстві для боротьби зі шкідниками; на заводах і фабриках (бензол, ацетон та інші органічні розчинники).

Всі леткі отрути діляться за здатністю змішуватися з водою на:

1. Речовини, що не змішуються або погано змішуються з водою (бензол, хлороформ), утворюють після перегонки два чітких шари: вода і речовина, які легко розділити.

2. Речовини, що утворюють з водою суміші, у яких склад пари і рідини однаковий (фенол, етанол) – азеотропні суміші. У дистиляті не розділяються. Для розділення азеотропних сумішей використовують перегонку при зниженому та підвищеному тиску або фракційну перегонку.

## Летальні дози деяких летких отрут

Отрута	Летальна доза
Синильна кислота (HCN)	0,05-0,1 г;
Ціаністий калій (KCN)	0,15-0,25 г;
Метанол (CH <sub>3</sub> OH)	25-100 г (7-8 г призводить до сліпоти);
Етанол (C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH)	100—150 г (250-275 мл горілки для непитущої людини і 15-25 г для дитини)
Хлороформ (CHCl <sub>3</sub> )	50-70 г
Оцтова кислота (CH <sub>3</sub> COOH)	15 г

**1.8.1 Методи ізолювання летких отрут з біологічного матеріалу**

Для ізолювання летких отрут у хіміко-токсикологічному аналізі використовують такі методи:

- перегонка (дистиляція) з водяною парою при атмосферному тиску;
- перегонка з водяною парою при зменшеному тиску;
- перегонка з водяною парою при підвищеному тиску;
- методи мікродифузії;
- сухоповітряна відгонка;
- парофазний метод.

У судово-хімічних лабораторіях ізолювання летких отрут із біологічного матеріалу найчастіше здійснюють *методом перегонки (дистиляції) з водяною парою* при атмосферному тиску при нагріванні та підкисленні насиченим водним розчином щавлевої або винної кислоти до рН 2 – 2,5. Вибір значення рН обумовлюється тим, що при рН 2–2,5 забезпечується швидке руйнування зв'язку білків з речовиною. Вибір щавлевої або винної кислоти зумовлений тим, що мінеральні кислоти можуть розкласти леткі отрути (наприклад, синильну кислоту  $\text{HCN} + 2\text{H}_2\text{O} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HCOOH} + \text{NH}_4^+$ ) або викликати утворення отруйних речовин при дослідженні біологічного матеріалу (наприклад, у результаті гниття білків в організмі утворюється сірчаноокислий ефір фенолу).

*Метод перегонки при зменшеному тиску* проводиться за допомогою ротатійних випарувачів і застосовується частіше для дослідження термічно нестійких речовин.

*Методом перегонки при підвищеному тиску* ізолюють термічно стійкі речовини, які мають високу температуру кипіння.

*Метод мікродифузії* застосовується для аналізу проб крові, сечі, невеликих наважок гомогенізованих органів.

Ізолювання дослідного матеріалу проводять у закритих камерах або бюксах, на дно яких поміщають аналізовану пробу і ставлять тигель з поглинальним розчином. Відбувається випаровування отрути в присутності висолювача або без нього, при кімнатній температурі або при нагріванні (37—50 °С) у поглинальний розчин, з яким у подальшому проводять якісні реакції.

*Метод сухоповітряної відгонки* відрізняється від мікродифузії тільки тим, що через досліджувану пробу пропускають сухе повітря. Використовується для низькокиплячих речовин.

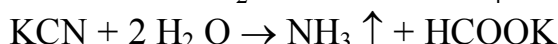
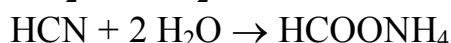
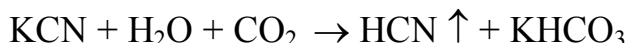
*Парофазний метод* придатний для лабораторного експрес-аналізу біологічних рідин живих організмів і заснований на одержанні летких похідних, які легко переходять у парову фазу, з подальшим аналізом цих речовин методом газорідинної хроматографії.

### **1.8.2 Фізичні властивості та токсична дія деяких летких отрут**

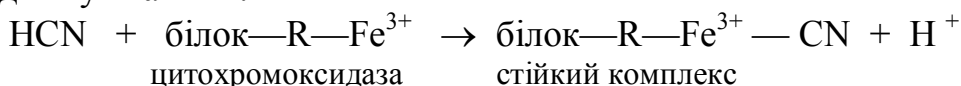
#### *Синильна кислота (HCN)*

*Летальна доза* 0,05-0,1 г.

*Фізичні властивості.* Рідина без кольору, має запах гіркою мигдалю, летка, температура кипіння — 25,6 °С. Дуже слабка кислота  $K_a = 4,8 \cdot 10^{-10}$ , солі її у воді нестійкі:



*Токсична дія.* Синильна кислота уражає дихання, тобто блокує дихальний фермент – цитохромоксидазу, при цьому кисень від гемоглобіну не надходить у тканини.



*Метаболізм* синильної кислоти протікає у двох основних напрямках: гідроліз з утворенням амонію форміату і перетворення ціанід-іона в роданід-іон під дією ферменту роданази.

*Антидоти* при отруєнні синильною кислотою:

- речовини, що містять натрію або калію тіосульфати.
- речовини, що утворюють метгемоглобін – солі та ефіри азотистої кислоти:  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{KNO}_2$ , аміловий ефір, метиленовий синій.
- вуглеводи (глюкоза) зв'язують синильну кислоту та її солі з утворенням ціангідрину глюкози.

Висновок про наявність отрути дають через 24—48 год, оскільки сліди HCN і домішок білкових речовин уповільнюють утворення осаду. Для прискорення його випадання вводять розчин  $\text{BaCl}_2$  і на осаді  $\text{BaSO}_4$  співосаджується осад берлінської лазурі. У судово-слідчі органи

направляється осад берлінської лазури. Чутливість реакції – 20 мкг в 1 мл розчину.

Папір, змочений розчином солі міді та бензидином, синіє при наявності синильної кислоти або її солей.

#### Галогенопохідні аліфатичного ряду

*Летальні дози:*

хлороформ  $\text{CHCl}_3 = 50\text{—}70$  г;

чотирихлористий вуглець  $\text{CCl}_4 = 20\text{—}50$  мл;

хлоралгідрат  $\text{CCl}_3\text{—C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \text{H} \end{array} \cdot \text{H}_2\text{O} = 10$  г і менше;

дихлоретан  $\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{—CH}_2 \\ | \quad | \\ \text{Cl} \quad \text{Cl} \end{array} = 15\text{—}25$  мл.

*Токсична дія.*

- *хлороформ і хлоралгідрат* – наркотики. Вони спочатку збуджують, а потім паралізують нервову систему;

- *чотирихлористий вуглець* діє на організм подібно до хлороформу, але повільніше і викликає значні порушення в органах: у печінці, нирках спостерігається жирове переродження;

- *дихлоретан* за наркотичною дією – найсильніший з отруйних галоїдопохідних.

Отруєння цими речовинами супроводжується блюванням, проносом, здуттям живота, збільшенням і хворобливістю печінки, анурією (ниркова недостатність, що виражається закупоркою сечовивідних шляхів).

*Метаболізм* вивчений недостатньо, кінцевим результатом метаболічних процесів є діоксид вуглецю і хлористоводнева кислота:



*Особливістю ізолювання* галогенопохідних отрут аліфатичного ряду є здатність переганятися вже в перші порції дистиляту. При значних кількостях отрут (>1 г) у дистиляті спостерігаються краплі рідини, що не змішуються з водою.

*Аналіз* починають із загальної (неспецифічної) і низькочутливої реакції на  $\text{Cl}^-$  з  $\text{AgNO}_3$  після відокремлення органічно зв'язаного хлору, яку дають усі галоїдопохідні.

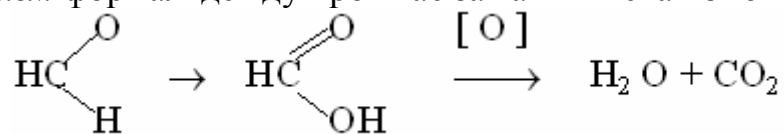
#### Формальдегід ( $\text{HCHO}$ )

*Летальна доза* 15—25 мл.

*Токсична дія.* Формальдегід уражає дихання, викликаючи при вдиханні різкий кашель, сльозотечу. Потрапляння формальдегіду через рот

супроводжується нудотою, судомами, втратою свідомості, уражає нирки, паралізує дихання.

Метаболізм формальдегіду протікає за таким механізмом:



Аналіз формальдегіду починають з проведення високочутливих реакцій:

- реакція з хромотроповою кислотою, в результаті якої спостерігається фіолетове або червоно-фіолетове забарвлення розчину. Реакція неспецифічна, адже її дають речовини, які при гідролізі, дегідратації або окислюванні утворюють формальдегід.

- реакція кодеїну і сірчаної кислоти, в результаті якої спостерігається синьо-фіолетове або червоно-фіолетове забарвлення.

- реакція з фуксिनосірчистою кислотою — неспецифічна, оскільки її дають альдегіди (фурфурол, ацетальдегід та ін.) і навіть окислювачі повітря (хлор, кисень, окисли азоту).

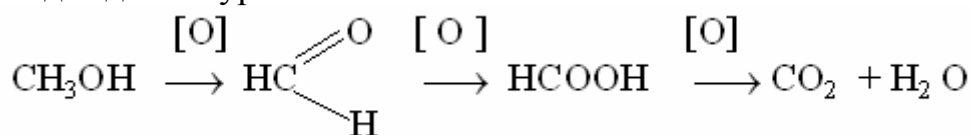
- реакції з резорцином; відновлення іонів срібла; із реактивом Фелінга — менш чутливі і неспецифічні, але вони виконуються обов'язково, якщо отримано позитивний результат високочутливих реакцій.

#### Метанол (CH<sub>3</sub>OH)

Летальна доза метилового спирту 40—100 мл. При вживанні 7—8 мл метанолу у хворого настає сліпота. Здатний до кумуляції (накопиченні в організмі).

Токсична дія метилового спирту полягає в ураженні нервової та судинної систем, зорового нерва, сітківки ока. Метанол діє на гемоглобін і блокує перенесення кисню, що викликає гіпоксію. Здатен до кумуляції.

Токсичність метанолу обумовлена продуктами метаболізму — формальдегідом і мурашиною кислотою:



Формальдегід уражає зоровий нерв, а мурашина кислота призводить до сильного ацидозу (зниження рН крові (в нормі рН крові становить 7,35-7,45)

Антидотом при ураженні метиловим спиртом є етиловий спирт, який легше розкладається ферментом алкогольдегідрогеназою, а метанол виводиться нирками, легенями в менш токсичному, нативному стані.

Особливості ізолювання. Метанол леткий і для зменшення втрат його збирають у збірник, охолоджений льодом або холодною водою.

При дослідженні вин леткі кислоти попередньо зв'язують карбонатом натрію, а потім відганяють метанол.



### Етиловий спирт ( $C_2H_5OH$ )

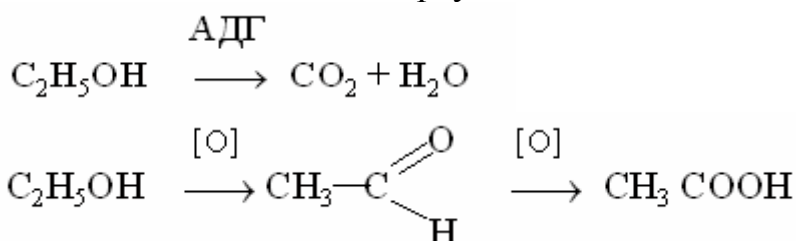
Летальні дози етилового спирту: 100—150 г (250—275 мл горілки) для непитущої людини і 15—25 г для дітей.

Етиловий спирт уражає нервову і серцево-судинну системи, викликає цироз печінки, психози. Він локалізується у мозку, печінці, нирках. Спирт – наркотик, який збуджує, а потім пригнічує нервову систему.

90 % уведеної дози етилового спирту окислюється до  $H_2O$  і  $CO_2$  під дією алкогольдегідрогенази (АДГ) і 10 % виводиться легеньми, нирками.

В організмі людини в нормі виробляється ендогенний спирт (0,002—0,004 %) у результаті окислення вуглеводів вищих спиртів, розпаду білкових речовин.

Метаболізм етилового спирту:



При введенні лікарських речовин — антабусу або ціаміду — затримується процес окислення ацетальдегіду до оцтової кислоти, що призводить до накопичення ацетальдегіду. Це супроводжується нудотою, блюванням, головним болем.

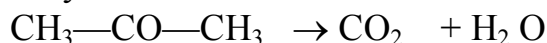
Аналіз етилового спирту починають з попередньої, неспецифічної реакції утворення йодоформу, яку дають ацетон, молочна кислота.

Спирти використовуються в медицині, на хімічних заводах, у харчовій промисловості. Денатурат (технічний спирт) включає 2,5 % ацетонистого спирту (75 % метанолу і 0,5 % піридинових основ).

### Ацетон ( $CH_3COCH_3$ )

Летальна доза 25—50 мл.

Метаболізм ацетону:



Ацетон у малих кількостях за нормою присутній у сечі людини в межах 20—25 мг, він є одним із нормальних метаболітів нашого організму. При захворюванні на діабет вміст ацетону зростає.

### Фенол ( $C_6H_5OH$ )

Летальна доза 8—15 г.

Фенол добре всмоктується в організмі при попаданні через рот, дихальні органи. При токсичних дозах спостерігаються печія, біль у шлунку, блювання, пронос, сеча набуває чорного кольору. Відзначається жирове переродження печінки, нирок.

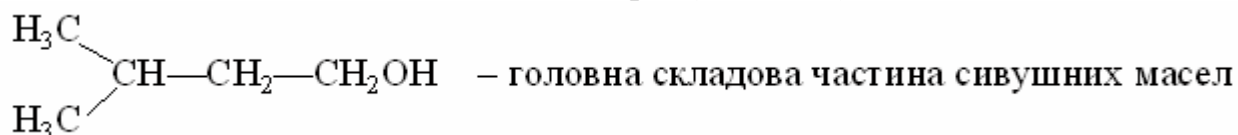
*Метаболізм фенолу.* З організму фенол виділяється із сечею у вигляді ефірів із сірчаною та глюкуроною кислотами: темно-зелений колір сечі свідчить про окиснення фенолу:



*Аналіз фенолу* починають проведенням *реакції з бромною водою* — найбільш чутливої, попередньої, але неспецифічної (анілін, саліцилова кислота, ароматичні аміни та ін.).

Даною реакцією виявляють фенол, який утворюється при гнитті білка. Судово-хімічне значення має негативний результат реакції.

#### *Ізоаміловий спирт (C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>OH)*



*Летальна доза* 10—15 г. До складу сивушних масел також входять вищі спирти (бутиловий, аміловий), альдегіди, ефіри, кетони.

Використовується ізоаміловий спирт у медицині, при виробництві бездимного пороху.

*Токсична дія* ізоамілового спирту — наркотик, більш отруйний, ніж етанол, бо повільно всмоктується, метаболізує й виводиться, викликаючи сильне і тривале сп'яніння з неврологічними і психічними порушеннями.

*Метаболізм.* Частина введеної дози метаболізує шляхом окиснення до ізовалеріанового альдегіду та ізовалеріанової кислоти, а частина виводиться у незміненому вигляді нирками і легенями.

*Особливості ізолювання.* Спирт екстрагують ефіром (хлороформом) із дистилату, а потім відганяють ефір і виконують аналіз.

При аналізі вина 40—50 мл його розводять водою до вмісту етанолу 10—15 % (спирт у такій кількості не ізолюється ефіром або хлороформом), а потім 15 мл СНСl<sub>3</sub> ізолюють ізоаміловий спирт.

#### *Оцтова кислота (CH<sub>3</sub>COOH)*

*Летальні дози.* 200 мл оцту, 10—20 г оцтової есенції.

*Токсична дія* оцтової кислоти — опік стравоходу, гемолітична анемія, уремія. **Уремія** — самоотруєння організму, обумовлене затримкою в крові азотистих основ (сечовина 500-1000 мг%), ацидозом, порушенням електrolітичної, водної і осмотичної рівноваги у зв'язку з нирковою недостатністю, інтоксикаціями, отруєннями (в тому числі і лікарськими засобами).

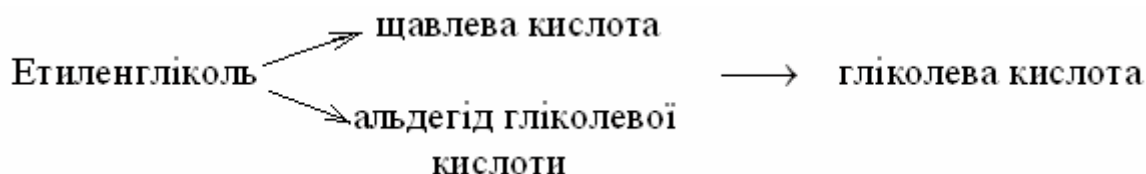
#### *Етиленгліколь (CH<sub>2</sub>OH—CH<sub>2</sub>OH)*

*Фізичні властивості.* Двоатомний спирт, безбарвна масляниста рідина, змішується з водою у будь-яких співвідношеннях. Використовується в техніці як антифриз; у хімічній промисловості — як розчинник, для проведення органічного синтезу.

Шлях надходження до організму — через рот, шкіру, тому що спирт малолеткий і його надходження через органи дихання обмежене.

*Токсичність* етиленгліколю полягає в тому, що він є судинною і протоплазматичною отрутою, яка викликає дегенерацію судин і ушкодження нирок через відкладання в них оксалатів.

*Метаболізм* складний, включає багатоетапне окислення:



З організму етиленгліколь і його метаболіти виводяться із сечею.

*Особливість направленої ізолювання* з біологічного матеріалу — використання бензолу як селективного переносника етиленгліколю при перегонці з водяною парою. Збирають дистилят об'ємом не менше 500 мл. Дистилят розділяється на два шари: верхній — бензол, нижній — етиленгліколь з водою.

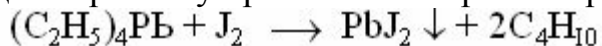
#### *Тетраетилсвинець* $(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{Pb}$

*Фізичні властивості.* Тетраетил свинець — прозора безбарвна рідина, майже не розчиняється у воді, легкорозчинна в бензині, ефірі, хлороформі, спирті, у жирах, оліях. Легко розкладається під впливом нагрівання, сонячних променів до неорганічних солей свинцю.

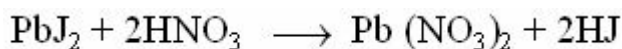
Використовується як антидетонатор.

Тетраетилсвинець дуже токсичний, надходить через рот, органи дихання, шкіру, уражає нервову систему, викликає головний біль, безсоння, розлад зору, судоми.

*Особливість направленої ізолювання* — після перегонки з водяною парою тетраетилсвинець збирають у приймач із спиртовим розчином йоду.



Потім рідину випарюють до сухого залишку, який розчиняють в азотній кислоті.



Розчин знов упарюють, сухий залишок розчиняють у воді й аналізують на  $\text{Pb}^{2+}$  реакціями утворення свинцю дитизонату;  $\text{PbSO}_4$ ;  $\text{PbI}_2$ ;  $\text{PbCrO}_4$ ;  $\text{PbS}$ .

При аналізі харчових продуктів, одягу, рослинної сировини тетраетилсвинець екстрагують органічними розчинниками.

### **1.8.3 Кількісний аналіз летких отрут**

Для кількісного визначення летких отрут можуть бути застосовані вагові, об'ємні, фотоколориметричні методи та метод газорідинної хроматографії.

*Ваговим методом* визначаються: синильна кислота (ціаніди) за ціанідом срібла; фенол — за трибромфенолом; алкілгалогеніди — за хлоридом срібла.

*Об'ємний метод* застосовують для визначення: синильної кислоти й алкілгалогенідів (аргентометрично); фенолу (броматометрично); формальдегіду і ацетону (йодометрично); оцтової кислоти (нейтралізацією).

*Фотоколориметрично* визначається: синильна кислота — за інтенсивністю забарвлення поліметинового барвника; формальдегід і етиленгліколь (після переведення у формальдегід) — з фуксиносірчистою кислотою; етанол — з калію дихроматом у сірчано кислому середовищі; алкілгалогеніди (хлороформ, хлоралгідрат, чотирихлористий вуглець) — за ступенем забарвлення продукту реакції фуджівара. Фотоколориметричний метод перевершує за чутливістю вагові та об'ємні методи, але поступається методу газорідинної хроматографії.

*Метод газорідинної хроматографії* застосовують для кількісного визначення алкілгалогенідів, етанолу та інших спиртів.

## 1.9 Металічні отрути

Речовини, об'єднані в групу металічних отрут, містять сполуки барію, кобальту, талію, марганцю, хрому, цинку, срібла, свинцю, кадмію, міді, вісмуту, ртуті, олова, а також миш'яку і сурми.

Відомо, що метали та їх сполуки входять до складу ферментних систем (Mn, Cu, Co та інші) – і є біогенними. Але кількість дуже мала.

Метали та їх сполуки знайшли широке застосування в народному господарстві: металеві сплави, скло, кераміка, лаки, фарби, гуми, хімічні реактиви, у сільському господарстві як пестициди (барію хлорид, гранозан, міді сульфат та ін.), у медицині як лікарські препарати (барію сульфат, калію перманганат, срібла нітрат, осарсол тощо).

Причини отруєнь металічними отрутами:

- неправильне використання мідного, оцинкованого, кадмійованого посуду при зберіганні харчових продуктів;
- вдихання дрібнодисперсних частинок при роботі з обробки металів;
- внесення з рослинними продуктами харчування після їх обробки пестицидами, які містять металічні отрути;
- медикаментозні отруєння (неправильне зберігання, передозування).

### ***1.9.1 Основні закономірності поведження” металічних” отрут в організмі***

Вивчення закономірностей поведження сполук металів в організмі необхідне для правильного вибору методу ізолювання, для визначення об'єктів дослідження та часу утримання в них отрут.

Шляхи надходження до організму «металічних» отрут:

- 1) шлунково-кишковий тракт (через рот);

- 2) органи дихання (характерно для летких сполук: сурм'янистого водню, сурми сульфїду, ртутї та її сполук);
- 3) крізь шкіру (препарати ртутї, талїю, кадмїю);
- 4) крізь плаценту і слизові оболонки (миш'як).

Всмоктування іонів металів найбільше відбувається у верхньому відділі тонкого кишківника. Деякі сполуки металів не всмоктуються в ШКТ у зв'язку з їх малою розчинністю, наприклад барїю сульфат. Метали можуть бути присутні в крові в іонному вигляді (тоді відбувається активний транспорт) або у вигляді комплексів (можливе неактивне всмоктування).

Для більшості металів характерне накопичення у м'яких тканинах (шлунок, стінки кишківника), особливо в тих, що багаті сульфогідрильними групами (печінка, нирки); крім того, срібло накопичується в шкірі, а свинець, барій, кадмій, миш'як — у плоских кістках. Для всмоктування має значення характер отруєння. Так, миш'як, ртуть при гострих отруєннях виявляються у нирках, печінці, при хронічних — у нігтях, волоссі, кістках.

У процесі метаболічних перетворень металічні отрути в організмі піддаються окисненню, відновленню, кон'югації, гідролїзу.

Виділяються з організму метали в основному нирками (із сечею), ШКТ (через кишечник), деякі з них (миш'як, ртуть) — потовими і молочними залозами.

Токсична дія обумовлена тим, що катіони металів зв'язуються з амінокислотами, пептидами і білками організму, утворюючи при цьому міцні комплекси за рахунок реакційноздатних функціональних груп ( $-\text{SH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{OH}$ ). У таблиці 3 показана токсична дія деяких «металічних отрут».

Таблиця 3

Токсична дія окремих «металічних» отрут

«Металічна» отрута	Токсична дія
1	2
Марганець	протоплазматична отрута, вражає ЦНС, нирки, легені, органи кровообігу
Хром	нефротоксична, припікаюча дія, блокує ряд ферментів
Срібло	припікаюча дія, вражає ряд капілярів
Мідь	нейро-, гемо-, нефротоксична, місцева припікаюча дія
Цинк	ентеротоксична дія
Вісмут	метгемоглобїнотворна; нейро-, гепатотоксична дія
Ртуть	нейро-, нефротоксична дія

1	2
Миш'як	підвищує проникність і спричиняє параліч капілярів; викликає гемоліз, блокує тілові ферменти
Талій	протоплазматична отрута; нейротоксична дія
Барій	підвищує проникність клітинних мембран та капілярів (смерть від серцево-судинної недостатності)
Свинець	нефротоксична дія; блокує ряд ферментів

### 1.9.2 Сучасні методи мінералізації

Необхідність мінералізації об'єктів дослідження при ізолюванні металічних отрут викликана тим, що катіони металів здатні вступати у з'єднання з білками, амінокислотами, пептидами й утворювати з ними досить стійкі комплекси. Метали в таких комплексах знаходяться у зв'язаному стані і не можуть бути виявлені без попередньої мінералізації біологічного матеріалу.

**Мінералізація** – це окиснення (спалювання) органічної речовини, яка є об'єктом дослідження, з метою руйнування комплексів металів з білками, після чого «металічні» отрути переходять у розчин в іонному стані.

**Методи мінералізації.** Методи мінералізації можна розділити на загальні і часткові. До загальних методів звичайно відносять мінералізацію за допомогою кислот. Методи «сухої» мінералізації застосовуються головним чином як часткові. До часткових методів належить також деструктивна мінералізація, що необхідна для ізолювання неорганічних сполук ртуті.

Існують *методи «сухої» і «мокрої» мінералізації*. До методів «мокрої» мінералізації належить рідкофазне окислення сумішами кислот (сірчаною і азотною; сірчаною, азотною і хлорною), до «сухої» мінералізації — спалення, сплавлення із содою та селітрою.

**Вибір об'єкта хіміко-токсикологічного аналізу** для виявлення металічних отрут залежить від їх розподілу і депонування в органах і тканинах. При ненаправленому аналізі беруть шлунок із вмістом, тонку й товсту кишки із вмістом, печінку, нирку, сечу, селезінку. При направленому аналізі на деякі металічні отрути додатково до вищеназваних об'єктів додають:

- пряму кишку, волосся (сполуки ртуті);
- плоскі кістки (сполуки свинцю);
- плоскі кістки і волосся (сполуки талію);
- волосся, нігті, плоскі кістки (сполуки миш'яку);
- мозок, легені (тетраетилсвинець).

**Особливості деструктивної мінералізації біологічного матеріалу при дослідженні на ртуть.** Деструктивна мінералізація — частковий метод мінералізації, застосовується при хіміко-токсикологічному дослідженні на неорганічні сполуки ртуті. Необхідність часткового методу ізолювання

зумовлена тим, що в процесі повної мінералізації ртуть втрачається, тому проводять не повне руйнування органічних речовин, а часткове, направлене на розрив зв'язку між ртуттю і білками. Мінералізацію закінчують на стадії деструкції.

Об'єктами дослідження на неорганічні сполуки ртуті є печінка, нирки.

### **1.9.3 Кількісне визначення металічних отрут**

При виявленні «металічних» отрут у мінералізаті для більшості з них потрібне проведення кількісного визначення, що зумовлено природним вмістом багатьох елементів (марганець, мідь, цинк, хром) в організмі або накопиченням їх у процесі життєдіяльності (миш'як, ртуть, свинець).

Вдаються до таких методів кількісного визначення:

- гравіметричний (для барію — у вигляді осаду  $BaSO_4$ );
- титриметричні: комплексометричний (барій, свинець, цинк, мідь, вісмут, кадмій), йодометричний (свинець), аргенто-метричний (миш'як), роданометричний (срібло);
- фотоколориметричний (марганець — за реакцією з калію перйодатом; ртуть, свинець, срібло, талій, цинк — за реакцією з дитизоном; талій, сурма - за реакцією з малахітовим або брильянтовим зеленим; хром — за реакцією з дифенілкарбазидом; мідь — за реакцією із свинцю діетилдитіокарбамінатом; вісмут — за реакцією з тіосечовиною);
- візуальний колориметричний (ртуть — за реакцією із суспензією йодистої міді; миш'як — проба Зінгер-Блека);
- атомно-абсорбційний метод можна використовувати і для якісного, і для кількісного аналізу всіх металів.
- атомно-абсорбційна спектроскопія метод кількісного елементного аналізу за атомними спектрами поглинання (абсорбції). Через шар атомних парів проби, одержуваних за допомогою атомізатора, пропускають випромінювання в діапазоні 190—850 нм. Внаслідок поглинання квантів світла атоми переходять у збуджені енергетичні стани. Цим переходам в атомних спектрах відповідають так звані резонансні лінії, характерні для даного елемента.

За законом Бугера-Ламберта-Бера, мірою концентрації елемента служить оптична густина.

### **1.10 Лікарські отруєння**

Лікарські препарати мають різну дію на організм (наркотичну, анальгетичну, нейролептичну, спазмолітичну, анестетиичну, снодійну і т.д.).

*Отруєння лікарськими препаратами* займають одне з перших місць серед отруєнь токсичними речовинами за кількістю смертельних випадків, що *обумовлено*:

- доступністю препаратів в аптечній мережі, в рослинах;
- передозуванням лікарських препаратів;

- самолікуванням хворих;
- індивідуальною несприйнятливістю окремих препаратів;
- поєднанням з алкоголем та іншими лікарськими препаратами, що сповільнює метаболізм, потенціює токсичну дію речовин;
- явищами наркоманії і токсикоманії;
- випадками суїциду.

*Лікарські отрути можуть потрапляти в організм:*

- через рот (таблетки, порошки, частини рослин);
- дихальні шляхи (нікотин, анабазин — при палінні, кокаїн. Можуть бути введені парентерально, ректально).
- речовини кислого характеру (саліцилова кислота, барбітурати) всмоктуються у шлунку (рН 1);
- речовини основного характеру (алкалоїди, похідні фенотіазину, л-амінобензойної кислоти) всмоктуються в тонкому кишечнику (рН 5 - 7);
- нікотин і анабазин всмоктуються крізь слизові оболонки рота, у легенях.

Метаболізм лікарських отрут відбувається переважно в печінці. Розподіл і локалізація препаратів залежать від складу і функціональних особливостей органів і тканин. Добре розчинні в ліпідах токсичні речовини (барбітурати, похідні фенотіазину) легко проникають крізь мембрани клітин, швидко розподіляються в багатих ліпідами органах і тканинах, що добре забезпечуються кров'ю,— у головному та кістковому мозку.

Всмоктування, розподіл і локалізація отрут залежать від їх фізико-хімічних властивостей. Локалізація ліків також залежить від характеру отруєння. При гострому отруєнні — у шлунку, кишечнику, печінці, нирках; при хронічному — у головному й кістковому мозку.

Виводяться лікарські препарати в нативному стані та у вигляді метаболітів через нирки, кишечник, легені, шкіряний покрив.

**Методи ізолювання лікарських отрут.** Широко впроваджені в практику хіміко-токсикологічного аналізу методи екстракції лікарських отрут водою чи спиртом, при підкисленні щавлевою кислотою.

Загальні методи ізолювання лікарських отрут поділяються на дві підгрупи:

1. Речовини, які екстрагуються органічним розчинником з кислого водного середовища — *«кисла» хлороформна витяжка*. У «кислу» хлороформну витяжку потрапляють речовини кислого (саліцилова кислота та її похідні, барбітурати), нейтрального (ноксирон, парацетамол), слабоосновного характеру (алкалоїди, похідні пурину, індолу) і частково — середньої основності (похідні піразолону, 1,4-бензодіазепіну), що не дають стійких солей з кислотами.
2. Речовини, які екстрагуються органічним розчинником з лужного водного середовища,— *«лужна» хлороформна витяжка*. У «лужну» хлороформну витяжку потрапляють речовини основного характеру (алкалоїди; синтетичні препарати — похідні фенотіазину, 1,4-бензодіазепіну, піразолону, амінобензойної кислоти).



## ***Методи виявлення лікарських отрут.***

### **1. Хімічні методи**

Для виявлення «лікарських» отрут використовуються:

а) Реакції забарвлення (кольорові реакції)

б) Реакції осадження

В їх основі лежать процеси

- утворення солей, важкорозчинних у водному середовищі;

- утворення комплексів з важкими металами, майже не розчинних у водному середовищі.

в) Мікрокристалоскопічні реакції

Реакції ґрунтуються на осадженні досліджуваних речовин за допомогою відповідних реактивів та на визначенні форми утворюваних кристалів.

### **2. Фізико-хімічні методи**

У хіміко-токсикологічному аналізі лікарських отрут переважно використовуються спектральні та хроматографічні методи.

- спектральні методи аналізу – спектроскопія в УФ- та ІЧ-областях

- хроматографічні методи аналізу – ТШХ, ГРХ, ВЕРХ, електрофорез

### **3. Токсикологічні методи**

Деякі отруйні речовини при дії на організм тварин викликають характерні фізіологічні реакції. Так, наприклад, атропін, введений в око кішки, викликає розширення зіниці. Після нанесення розчину нікотину на спинку жаби вона приймає характерну позу. Те ж саме стосується і стрихніну: при нанесенні на спинку в жаби з'являються тетанічні судоми, а потім вона приймає позу, характерну для отруєння стрихніном.

***Кількісне визначення лікарських отрут.*** Є заключним етапом хіміко-токсикологічного аналізу і проводиться після ідентифікації токсичних речовин, виділених з біологічного матеріалу. При ідентифікації можуть бути виявлені токсичні речовини, вжиті людиною перед смертю в терапевтичних дозах (з лікувальною метою), та отрути, що надійшли до організму. Причина отруєння оцінюється тільки на підставі результатів кількісного визначення.

У хіміко-токсикологічному аналізі для кількісного визначення токсичних речовин, виділених з біологічного матеріалу та інших об'єктів, застосовуються чутливі фотоколориметричні, спектрофотометричні, газохроматографічні й деякі інші методи.

## **1.11 Судово-медична діагностика отруєнь**

Факт отруєння є підставою для призначення судово-медичної експертизи.

При судово-медичній експертизі отруєнь необхідно вирішити такі питання:

- встановити факт отруєння;

- визначити отруту, що викликала отруєння;

- шлях введення отрути;

- доза отрути (кількісне визначення є дуже важливим, тому що деякі отрути можуть надходити до організму як лікарські речовини (хлороформ, хлоралгідрат), інші можуть надходити в умовах професійного або побутового характеру (етанол, ацетон, фенол, оцтова кислота, сліди синильної кислоти).

### Контрольні запитання

1. Що вивчає токсикологічна хімія?
2. Як класифікують отрути та інтоксикації?
3. У чому суть хіміко-токсикологічного аналізу?
4. Як відбувається метаболізм токсичних речовин в організмі людини?
5. Що таке леткі отрути?
6. Які існують методи аналізу летких отрут?
7. Що таке металічні отрути?
8. Які причини отруєнь “металічними” отрутами?
9. Як проводять кількісне визначення металічних отрут?
10. Що таке лікарські отруєння?
11. Що є причиною отруєння лікарськими препаратами?
12. Яким чином проводиться судово-медична експертиза отруєнь?

## 2. ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА

*Низькомолекулярні біорегулятори* – це численна група фізіологічно активних сполук, як природного походження, так і синтетичних, що виконують або впливають на різноманітні функції організму людей, тварин та мікроорганізмів. До цієї групи відносяться алкалоїди, вітаміни, терпеноїди, антибіотики, стероїдні гормони, гормони рослин, феромони, простагландини, природні отрути та токсини, лікарські препарати, пестициди, біологічно активні добавки (БАД) та ін. Об'єднання цих речовин в єдину групу дуже умовне і базується лише на здатності впливати на функціональні властивості живих організмів у невеликих кількостях. Вивчення низькомолекулярних біорегуляторів порушує проблеми життєдіяльності клітини, питання медичної та сільськогосподарської практики, взаємодію живих організмів в природній екосистемі.

### 2.1 Алкалоїди

Алкалоїди — це азотовмісні речовини складної будови, переважно рослинного походження, які мають сильну фармакологічну дію. В основі їх хімічної будови лежать найрізноманітніші гетероциклічні ядра: піридин і піперидин, тропан, хінолін, ізохінолін, пурін, індол та ін.

*Біологічна роль алкалоїдів:*

- каталізатори біохімічних процесів;

- відіграють роль захисних або сигнальних сполук (як інсектециди або феромони).

Високий вміст алкалоїдів мають бобові, пасльонові, макові, та деякі інші види рослин, зустрічаються вони і в грибах (мухомор, спорин'я та ін.), але дуже мало алкалоїдів у трояндах, папороті, мохах, лишайниках. Немає їх у бактерій.

*Класифікують алкалоїди за різними ознаками:*

- видом рослини, де містяться алкалоїди;
- за хімічною природою (похідні індолу, піридину, і т.д.);
- за характером фізіологічної дії (пригнічуючи біль, судинорозширюючі, антигельмінтики і т.д.).

### **2.1.1 Деякі групи алкалоїдів**

#### *1. Похідні піридину й піперидину.*

Головними алкалоїдами даної групи є:

*нікотин* — міститься в тютюні, хвощі польовому, плаунах. Нікотин застосовується у сільському господарстві для боротьби зі шкідниками рослин; *анабазину гідрохлорид* — для полегшення відвикання від паління; *анабазин* — у ветеринарії для боротьби із нашкоджуваними паразитами тварин; *пахікарпіну гідройодид* — у медицині для посилення пологової діяльності, при спазмах периферичних судин.

#### *2. Похідні тропану.*

Головними алкалоїдами даної групи є: *атропін* — міститься в беладоні, кополії, *скополамін* — міститься в дурмані, скополії, *кокаїн* — в листі коки.

*Атропіну сульфат* застосовується при виразковій хворобі шлунка і дванадцятипалої кишки, холециститі, жовчнокам'яній хворобі, в офтальмології. *Скополамін* входить до складу таблеток «аерон» (як протиблювотний і заспокійливий засіб при морській і повітряній хворобах). *Кокаїну гідрохлорид* має місцево-анестезуючу дію.

#### *3. Похідні хіноліну.*

Головний алкалоїд даної групи *хінін* міститься в корі хінного дерева. Хінін (у вигляді солей — сульфату, гідрохлориду й дигідрохлориду) діє на збудника малярії, застосовується при аритміях, в акушерській практиці для посилення пологової діяльності.

#### *4. Похідні ізохіноліну.*

Головні алкалоїди даної групи – *морфін* і *кодеїн* містяться в опії, отриманому із маку снодійного. *Морфін* має властивість пригнічувати біль, це наркотичний анальгетик. Має седативні, снодійну дію. При регулярному вживанні виникає звикання та залежність (хворобливе звикання, що є одним з видів наркоманії). Різке призупинення вживання морфіну призводить до хворобливого стану абстиненції (втрати), яке в тяжких випадках може мати летальні наслідки.

*Морфіну гідрохлорид* застосовується як сильний болезаспокійливий засіб при шоку, онкозахворюваннях; *кодеїну фосфат* — при головних болях, невралгіях, кашлі, а також як болезаспокійливий засіб.

### 5. Похідні індолу.

Головними алкалоїдами даної групи є: *стрихнін* і *бруцин* — містяться в горіхові блювотному і бобах; *резерпін* — міститься в раувольфії зміїній.

Настойка горіха блювотного і *стрихніну нітрат* застосовуються при гіпотонічній хворобі, зниженому обміні речовин, ослабленні серцевої діяльності, паралічах. *Бруцину нітрат* — аналогічний за дією до стрихніну. Резерпін потрібен для лікування гіпертонії, при серцевій недостатності, застосовується в психіатрії і неврології.

### 6. Похідні пурину та піримідину.

Головними алкалоїдами даної групи є: *кофеїн* — міститься в зернах кави, листі чаю і деяких інших рослинах; *теобромін* — в плодах какао і листі чаю; *теофілін* — в листі чаю.

*Кофеїн* застосовується у вигляді солей — натрію кофеїн-бензоату, натрію кофеїн-саліцилату і як лікарські форми (аскофен, пірамеїн, цитрамон) для лікування захворювань центральної нервової системи, для збудження дихального центру, при лікуванні мігрені. *Теобромін* у вигляді лікарських форм (темісал, теоверин) стимулює серцеву діяльність, посилює діурез, призначається при спазмах судин мозку. *Теофілін* застосовується у вигляді лікарських форм (еуфілін, теофедрин) як діуретик, протиастматичний засіб, для лікування ішемічної хвороби серця.

### 7. Ациклічний алкалоїд ефедрин міститься в деяких видах ефедри.

*Ефедрину гідрохлорид* використовується при лікуванні бронхіальної астми, в офтальмології, входить до складу таблеток «теофедрин» та інших лікарських засобів.

*Синтетичні анальгетики.* У наш час одержано синтетичні наркотичні анальгетики, які в десятки разів сильніші від морфіну.

Анальгетики ненаркотичні — головний представник *аспірин* або *ацетилсаліцилова кислота*. Мають протизапальну, жарознижуючу дію, не викликають звикання.

Деякі речовини, що мають наркотичні властивості, такі як барбітурати, за своєю дією близькі до снодійних препаратів.

Відкриття та широке застосування психотропних засобів (нейролептиків, антидепресантів, психостимуляторів) та транквілізаторів (*tranquillo* - заспокоювати) — є дуже важливим досягненням сучасної біоорганічної хімії та медицини.

## 2.1.2 Токсична дія алкалоїдів

Токсична дія та особливості клінічних проявів, характерні для алкалоїдів:

- *анабазин* — порушення і згодом параліч закінчень передгангліонарних волокон вегетативної нервової системи (почастішання дихання, підвищення кров'яного тиску), випадіння волосся; нейролептична дія;
- *нікотин* — нейролептична дія; порушення, а потім пригнічення Н-холіноре- активних систем ЦНС, гангліїв надниркової залози (слинотеча,

диспептичні розлади, звуження зіниць, порушення зору, слуху, міофібриляція). Смертельна доза 0,01—0,08 г;

- *атропін* — блокада М-холінореактивних систем організму, парасимпатична денервація. Підвищення внутрішньоочного тиску, тахікардія, розширення зіниць, фотофобія, гіпотензія, сухість шкіри та ін. У великих дозах — психічні і рухові порушення. Смертельна доза: 0,01 г — для дітей, 0,05—0,1 г — для дорослих;

- *кокаїн* — нейротоксична дія; звикання, галюцинації, марення, страх або отупіння, втрата відчуттів смаку, слуху, зору, розширення зіниць. Смертельна доза 0,1 — 1,2 г при підшкірних ін'єкціях;

- *морфін* — наркотична дія; порушення центрів блукаючого нерва; кома, що супроводжується міозом з ослабленням реакції на світло, гіпертонія скелетних м'язів, пригнічення дихання, гіперемія шкіри, параліч дихання. Смертельна доза 0,1—0,4 г;

- *кодеїн* — те ж саме. Смертельна доза 0,8 г;

- *хінін* — дистрофія зорового нерва, нечіткість бачення, сліпота, розлади ритму серця; параліч центру дихання і серця. Смертельна доза близько 10 г;

- *стрихнін* — порушення ЦНС із переважним підвищенням рефлекторного збудження; «судомна» отрута; напруга в жувальних і потиличних м'язах, утруднення дихання, ковтання; раптові напади тетанічних судом рефлекторного характеру; гіркий смак у роті; почуття страху; параліч центру дихання. Смертельна доза 0,05 г;

- *ефедрин* — нейротоксична дія; головний біль, порушення серцебиття, тремтіння кінцівок, утруднення сечовипускання, безсоння. Підвищення артеріального тиску, ослаблення серцевої діяльності, клоніко-тонічні судоми, різке зниження артеріального тиску; смерть від порушення дихання, ослаблення серцевої діяльності, параліч. Смертельна доза: 0,2 г — для дітей, 2,0 г — для дорослих;

- *кофеїн* — збуджуюча дія на ЦНС; виснаження нервових клітин, клоніко-тонічні судоми, погіршення роботи серця. Смертельна доза 1,0 - 10,0 г;

- *пахікарпін* — нейротоксична дія, обумовлена блокуванням передачі збудження у вегетативних вузлах (пригнічує дію ацетилхоліну, гальмує транспорт іонів), слухові і зорові галюцинації, судомні реакції; порушення пам'яті, поліневрити. Смертельна доза 1,0—1,5 г.

### 2.1.3 Поводження в організмі та метаболізм

Алкалоїди всмоктуються в тонкому кишечнику, частково зв'язуються з білками, піддаються метаболічним змінам переважно в печінці, виводяться з організму в нативному стані або у вигляді метаболітів нирками та через кишківник. Нікотин і анабазин можуть виводитися через легені.

Для ідентифікації алкалоїдів використовують найбільш чутливі хімічні та фізико-хімічні методи аналізу алкалоїдів.

Хімічні методи:

1. Реакції осадження із загально алкалоїдними осадковими реактивами (пікринова кислота, сіль Рейнеке, реактиви Драгендорфа, Марме, Майєра, Зонненшейна та ін.).

2. Мікрокристалоскопічні реакції. Очищений хлороформний екстракт випарюють досуха, залишок розчиняють у 0,1 М розчині хлористоводневої кислоти. По одній краплі розчину наносять на предметні скельця із заглибленнями, куди додають різні реактиви. Результат спостерігають під мікроскопом. У таблиці 4 наведено форму кристалів, що утворюються в результаті хімічних реакцій з алкалоїдами.

Таблиця 4

#### Форма кристалів під час реакцій на алкалоїди

Речовина	Реактив	Форма кристалів
<i>Похідні піридину та піперидину</i>		
Нікотин	Драгендорфа	У вигляді птахів, що летять, букв К та Х
	Сіль Рейнеке	Зростки призматичних кристалів
	Розчин йоду в ефірі	Голчасті рубінові кристали
Анабазин	Драгендорфа	Зростки з голчастих кристалів у вигляді пік
	Сіль Рейнеке	Голчасті кристали
Пахікарпін	Бушарда	Золотисто-жовті або золотисто-зелені кристали у формі дубового листка
	Роданідний комплекс кобальту	Зростки з голубих призматичних кристалів, при стоянні — гіллясті дендрити
	Пікринова кислота	Зростки з жовто-зелених призматичних кристалів
<i>Похідні ізохіноліну</i>		
Морфін	Кадмію йодид	Безбарвні голки, зібрані в пучки
	Ртуті хлорид	Зростки з голчастих кристалів у вигляді пучків
Кодеїн	Кадмію йодид	Призматичні поодинокі та зібрані в пучки кристали

<i>Похідні тропану</i>		
Атропін	Пікринова кислота	Жовті кристали у вигляді пластинок або зростків з них
Атропін, скополамін	Сіль Рейнеке	Зростки кристалів з ромбовидними кінцями
Атропін	Бромна вода	Жовті або червоно-бурі кристали у вигляді зерен рису
Скополамін	Золотобромисто воднева кислота	Світло-коричневі, жовті зубчасті дендрити
Кокаїн	Калію перманганат	Червоно-фіолетові прямокутники
<i>Похідні хіноліну</i>		
Хінін	Кобальту роданід	Голчасті кристали, зібрані в зростки у вигляді пучків

### 3. Реакції забарвлення на алкалоїди.

Проведення реакцій забарвлення на хроматографічних пластинках (табл. 5):

- декілька крапель екстракту наносять в одну точку пластинки за допомогою капіляра;
- після висихання плями на екстракт наносять різні реагенти. Реакції чутливі, неспецифічні.

Таблиця 5

#### Реакції забарвлення на алкалоїди

Назва речовини	Реакції або реактив	Характер забарвлення
<i>Похідні піридину й піперидину</i>		
Нікотин	Формальдегід, концентрована азотна кислота	Рожеве
Анабазин	Пергідроль, концентрована сірчана кислота	Коричневе
	Ванілін, концентрована HCl	Вишнево-червоне
<i>Похідні ізохіноліну</i>		
Морфін	Заліза (III) хлорид	Фіолетове
	Реакція Пеллагрі	Зелене
	Калію гексаціаноферіат (III) і заліза (III) хлорид	Синє
Кодеїн	Маркі, Фреде, Манделіна	Зелене, яке переходить у синьо-фіолетове

<i>Ациклічні алкалоїди</i>		
Ефедрин	Реакція із солями міді та сірковуглецем	Жовте або коричневе (бензольний шар)
	Розчин нінгідрину	Рожево-фіолетове
	Реакція з 2,4-динітрохлор-бензолом	Жовте (хлороформний шар)
<i>Похідні індолу</i>		
Стрихнін	Концентрована $H_2SO_4$ , кристалик калію біхромату	Фіолетові струмки
	Віталі—Морена	Червоно-фіолетове
<i>Похідні тропану</i>		
Атропін, скополамін	Віталі—Морена	Фіолетове, яке швидко зникає
	n-диметиламіно-бензальдегід, концен-трована $H_2SO_4$	Вишнево-червоне, яке переходить у фіолетове
<i>Похідні хіноліну</i>		
Хінін	Флюоресценція	Блакитне
	Талейохінна реакція	Зелене
	Еритрохінна реакція	Рожеве (хлороформний шар)
<i>Похідні піримідину</i>		
Кофеїн, теобромін, теофілін	Мурексидна проба	Пурпурне або фіолетове

4. Фізико-хімічні методи ідентифікації: за УФ- та ІЧ-спектрами, методами тонкошарової (ТШХ), газорідинної (ГРХ), та високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

*Кількісне визначення* проводиться спектральними (УФ-спектрофотометрія, фотоелектроколориметрія, екстракційна фотометрія) і хроматографічними (тонкошарова хроматографія — планіметричний і денситометричний методи; газорідинна та рідинна хроматографії) методами.

### **2.1.4 Характеристика алкалоїдів**

*Морфін* - добувають з опію – висохшого соку незрілих головок маку снодійного. Там же знаходиться і наркотин, папаверин, кодеїн та біля 20 інших алкалоїдів. Виділений в чистому вигляді в 1806 році. Синтезований в 1952 році.

*Кодеїн* – метиловий ефір морфіну. Його вміст в опії 0,2-6%. Має слабку наркотичні дію. Використовується як препарат від кашлю.



*Героїн* – похідне морфіну. Сильніше морфіну в 10 тис. разів. 1 мг героїну заспокоює слона. Має наркотичну дію, викликає порушення дихання при звиканні більш небезпечний за морфін.

*Папаверин* – алкалоїд морфіну, похідне ізохіноліну. Виділений в 1848 році. Має спазмолітичну, помірну судинорозширюючу дію. Найбільш відомий синтетичний аналог папаверину – но-шпа та дибазол.

*Кокаїн* - одержують з листків куша південно-африканської рослини коки, яка зараз культивується також в Індії, країнах Азії, Африки та на Закавказзі. Сильний локальний анестетик. Викликає паралізуючу дію периферичної нервової системи, дуже токсичний. Викликає наркотичну залежність. Вперше виділений в 1860 році. Його синтетичний аналог – новокаїн, синтезований та введений в практику в 1905 році. Має біль високу анестетичну активність, але не практично відсутні наркотичні властивості.

*Атропін* — атропін зустрічається в рослинах сім'ї пасльонових (особливо багато його в рослині Красавка - *Atropa belladonna*), дурмані, біліні та ін. Знижує тонус гладкої мускулатури шлунково-кишкового тракту, жовчного та сечового міхура, бронхів, стимулює серцеву діяльність, місцевий анестетик. Вперше виділений в 1833 році.

*Нікотин* — найбільш відомий алкалоїд рослини тютюну. Це рідина з характерним табачним запахом. Виділений в 1828 році, синтез проведено в 1904 році. Нікотин та його похідні є гангліоблокаторами, діючими на н-холінрецептори центральної і особливо периферичної нервової системи, активуючи їх в малих дозах і пригнічуючи в великих. При гострих отруєннях (для мишей при внутрішньовенному введенні LD<sub>50</sub> складає 0,3 мг/кг) викликає тошноту, блювання, брахікардію, потім тахікардію, судоми, пригнічення, зупинку дихання.

Фізіологічний ефект, викликаний нікотинном, є причиною тяги до куріння, але необхідно відмітити, що вред від куріння пов'язаний не тільки з ним, а і з іншими компонентами табачної суміші, в основному з продуктами їх піролізу, в тому числі з поліароматичними вуглеводнями, що володіють канцерогенними властивостями.

*Тубокурарин* - алкалоїд з рослини кураре, застосовувався індіанцями Південної Америки як яд для струл. Фізіологічна дія була відома в Європі ще в XXI столітті. Використовується в хірургічній практиці, блокує нервово-м'язову передачу, вибірково діє на різні групи м'язів.

*Ефедрин* — одержують з рослини, що росте в Китаї (хвойник темний). Вперше виділений в 1887 році. Застосовується при бронхіальній астмі, як судинозвужуючий засіб, підвищує кров'яний тиск, зменшує запальні процеси.

*Хінін* — одержують з кори хінного дерева. Щоб зрозуміти значення хінних алкалоїдів для медицини, необхідно зупинитися на історії створення протималярійних препаратів.

Збудниками малярії є відкриті в 1880 році найпростіші – малярійні плазмодії, що переносяться особливим видом комарів *Anopheles*. Існує три

форми малярії: триденна, тропічна, чотириденна. Вони мають різні симптоми, різні проміжки між приступами і викликаються різними видами плазмодій. В організмі комара та крові людини плазмодії проходять кілька стадій свого розвитку і існують у вигляді різних форм, кожна з яких має різну чутливість до лікарських препаратів.

Індійці Південної Америки (Перу, Болівія) з глибокої давнини використовували для боротьби з малярією кору хінного дерева. Цей досвід перейняли подорожуючі по цих країнах місіонери-священнослужителі. Вперше згадується письмово така властивість хінного дерева в 1633 році. З часом природні запаси хінного дерева зменшилися і його стали культивувати в Південній Америці, в Індонезії.

З фармакологічної точки зору хінін являє собою антибіотик, механізм його біологічної активності є типовим для антибіотиків (він вибірково пригнічує реплікацію ДНК та транскрипцію РНК). Застосовується також при лікуванні деяких серцевих захворювань та в акушерській практиці.

Природа діючої речовини була з'ясована у 1820 році. Синтез проведено в 1945 році.

*Стрихнін* – одержують з насіння рослини чілібухи (“блювотні горішки”) широко розповсюдженій в Індії, Північній Австралії. Корінні мешканці використовували цю речовину як отруту для стріл. Стрихнін було відкрито в 1818 році. Це отрута, що викликає судоми, вражає спинний мозок, а потім центральну нервову систему, зір, слух, нюх, викликає судоми всіх м'язів та смерть від задухи.

*Кофеїн* — міститься в чайному листі (до 5%), кавових зернах (до 1,5%), Вперше виділений в 1819 році. Аналоги кофеїну: теобромін (міститься в бобах какао) та теофілін (в чайному листі). Кофеїн є типовим психостимулятором, збуджує серцеву діяльність, розширює коронарні судини, підсилює рухову активність та (як і теофілін) підсилює диурез.

*Резерпін* – головний алкалоїд рослини раувольфія зміїна, росте на півостровах Індостан, Індокитай, в Індонезії. Має низьку токсичність (по останніх дослідженнях канцерогенний), сильний гіпотензивний препарат з заспокійливою дією на центральну нервову систему. Використовується в медицині при гіпертонії та для лікування психічних та неврологічних захворювань. Препарат раунатин є сумішшю алкалоїдів раувольфії. Відома з XVI століття. Використовувалася в Індії для лікування зміїних укусів.

Розглянуті фармакологічні властивості морфіну, його похідних та аналогів свідчать про те що ці речовини були відомі людям з давніх давен, допомагали впоратися з гострим фізичним болем, психічними та інфекційними хворобами, нервовим напруженням. Багато з них стали слугувати не тільки медицині, але використовуватися в якості наркотиків. Наркоманія зараз перетворилась в дуже значимий бізнес, стала справжнім соціальним лихом. Систематичне вживання наркотиків, алкоголю, особливо в дозах, що постійно збільшуються, необоротно розшатує нервову систему, приводить до порушення всіх функцій організму і трагічного кінця.

## 2.2 Вітаміни

Вітаміни – це низькомолекулярні біорегулятори, які в невеликих кількостях необхідні для нормальної життєдіяльності людини і повинні надходити з їжею, так як організм людини не може їх синтезувати. Вітаміни не є продуктами харчування (білки, жири, вуглеводи), що забезпечують енергетичні та білкові потреби організму. Біосинтез вітамінів може проходити в організм людини тільки під впливом зовнішніх факторів, наприклад ультрафіолетового опромінення (вітаміни групи D), або наявності попередників (провітамінів), які ми одержуємо з їжею (наприклад вітамін А синтезується з каротину, який поступає з їжею). Більшість вітамінів є коферментами або їх попередниками, що беруть участь у численних ферментативних реакціях.

Здавна люди помічали, що відсутність у продуктах харчування якихось компонентів може бути причиною захворювань. Так, з давніх часів у Китаї помітили, що відвар рису виліковує хворобу бері-бері, яка виражається поліневритом, основними симптомами якого є втрата ваги, атрофія м'язів, серцево-судинні порушення, набряки. Пізніше виявили, що споживання шліфованого рису приводить до виникнення цього захворювання. Тому лікування полягало в споживанні відвару рисового лушпиння та висівок.

Відомий лікар давнини Гіппократ виліковував печінкою “курячу сліпоту”, вперше описав основні ознаки цинги (слабкість, кровотеча з ясен, випадіння зубів). В епоху великих географічних відкриттів XVI століття до раціону моряків, які надовго покидали сушу, було введено обов'язковий компонент – лимони.

В XVIII столітті для лікування рахіту широко використовували печінку риби тріски.

Була описана хвороба пелагра (“шершава шкіра”), яка полягала в тому що вражалася спочатку шкіра, язик, слизові оболонки, потім розвивалися психічні розлади. Було знайдено зв'язок між цим захворюванням і харчуванням продуктами виключно кукурудзи.

Термін “вітамін” був запропонований в 1912 році після виділення з рисових висівок життєдайного концентрату (вітаміну B<sub>1</sub>). Основні успіхи у вивченні вітамінів були зроблені в 30-х роках XX століття.

### 2.2.1 Вітамін А

Жиророзчинний вітамін, міститься в тваринних продуктах, особливо в печінці морських тварин та риб. Люди задовольняють всі потреби за рахунок рослинної їжі, оскільки провітаміни А – каротини містяться в свіжих овочах та фруктах. Недостача вітаміну А особливо небезпечна для дітей. У дорослих вітамін накопичується в печінці. При недостатці цього вітаміну в першу чергу страждає зір. В молодому організмі недостатка цього вітаміну виявляється в призупинці росту, особливо кісток, переродженням епітелію, клітин наднирників, ушкодженням центральної нервової системи.

### 2.2.2 Вітаміни групи В

*Вітамін В<sub>1</sub> (тіамін).* Діюча в організмі форма вітаміну В<sub>1</sub> є дифосфат, який ще називається кокарбоксілазою. Кокарбоксілаза є простетичною групою ряду ферментів. Згадана хвороба “бері-бері” якраз викликається недостатчею в організмі вітаміну В<sub>1</sub>.

*Вітамін В<sub>2</sub> або рибофлавін.* Міститься в коров'ячому молоці, овочах, яйцях, печінці, свинячому серці, почках дріжджах. При недостатчі цього вітаміну розвиваються захворювання шкіри, виникає запалення слизових оболонок, вражається сітківка очей, з'являються захворювання кровотворної системи, шлунково-кишкового тракту, м'язова слабкість, призупинка росту в молодих організмів.

*Вітамін В<sub>3</sub> або пантотенова кислота.* Знаходиться в дріжджах, зернях гороху, молоці, яйцях, печінці, серці та нирках тварин. При недостатчі цього вітаміну у тварин виникає дерматит, випадіння шерсті, далі проходять зміни в оболонці спинного мозку. У людей авітаміноз В<sub>3</sub> зустрічається дуже рідко, оскільки цей вітамін синтезує *Escherichia coli*, що знаходиться в кишечнику людини.

*Вітамін В<sub>5</sub> або РР (дві речовини ніотинова кислота (ніацин) та нікотинамід (ніацинамід)).* Є коферментом групи ферментів оксидоредуктаз (дегідрогенази), що беруть участь майже в 150 різних біохімічних реакціях дегідрірування, окислення, N-алкілювання, ізомеризації процесів дихання, енергетичного обміну і т.д. Міститься в рисових отрубах, дріжджах. Недостача викликає захворювання “пеллагра”. Провітаміном неонацину є триптофан, незамінна амінокислота, яка відсутня в кукурузі.

*Вітамін В<sub>6</sub> (піридоксин, піридоксаль, піридоксамін).* Виділений вперше з полірованого рису. Входить до складу біль як 50 ферментних білків, що беруть участь в процесах амінокислотного синтезу та метаболізму. Більша частина вітаміну поступає в організм людини за рахунок діяльності кишкової мікрофлори. При його недостатчі виникають захворювання шкіри у тварин, судоми, анемія, затримка росту в молодому віці. У дорослих людей авітаміноз В<sub>6</sub>, звичайно, не виникає. У дітей при неповноцінному харчуванні спостерігаються судоми, пов'язані з недостатчею вітаміну. Застосовується в медицині для лікування ряду шкірних хвороб в гінекології, гематології, фтизиатрії.

*Вітамін В<sub>9</sub> або фолієва кислота.* Виділена з листя шпинату і є фактором росту для курчат. Міститься також в печінці, тваринних тканинах, рослинних продуктах, виробляється кишковою мікрофлорою. Біохімічна функція в організмі: фолієва кислота виступає в ролі кофермента, в реакціях алкілованих похідних здатна переносити одновуглецеві радикали, бере участь в синтезі амінокислот (серину та метіоніну), пуринових та піримідинових основ, нуклеїнових кислот та ін. У медицині застосовується для боротьби з хворобами кровотворних органів.

*Вітамін B<sub>12</sub> або оксикобаламін, цианокобаламін, фактор кровотворення.* Нестача цього вітаміну викликає невиліковну форму малокрів'я – “пернициозну анемію”. Застосовується в гематології для лікування хронічних анемій, в неврології – для лікування поліневритів, розсіяного склерозу, радикуліту, в дерматології – для нормалізації жирової дистрофії печінки та ін. Джерелом цього вітаміну є тваринні тканини та бобові рослини. В промисловості вітамін B<sub>12</sub> одержують мікробіологічним шляхом з використанням культуральної рідини для виділення деяких антибіотиків.

*Вітамін С або аскорбінова кислота, антицинготний вітамін.* Вперше був виділений з лимонів, а потім з капусти, солодкого перцю. Природним джерелом цього вітаміну є свіжі овочі, фрукти, його досить багато в тваринних тканинах, так як більшість тварин можуть його синтезувати. Не синтезується вітамін С тільки в деяких птахів, мурчаків (морських свинок), приматів та людини. Людині необхідно кожен день отримувати 25-75 мг аскорбінової кислоти. Аскорбінова кислота є сильним відновником, бере участь в багатьох біохімічних процесах транспорту електронів, важливу роль відіграє в побудові фібрилярного білку коллагену, забезпечує утворення гормону допаміну, бере участь в обміні ліпідів. В медицині використовується для лікування цинги, діатезів, кровотеч, інфекційних та імунних захворювань, нормалізації ліпідного обміну, простуді, хіміотерапії онкологічних захворювань.

### **2.2.3 Вітамін D**

Дитяче захворювання рахіт описано в літературі ще в 1650 році. В XVIII столітті стало відомо, що воно виліковується при споживанні печінки риб. У 1924 році було встановлено, що захворювання також виліковується опроміненням ультрафіолетовими променями. Міститься в печінці риб, вершковому маслі, молоці, яйцях. В організмі людини вітаміни групи D (D<sub>1</sub> – D<sub>7</sub>) регулюють всмоктування Ca<sup>2+</sup> в кишечнику, гомеостаз Ca<sup>2+</sup> та фосфатів. Більшість функцій виконує в організмі не сам вітамін D, а його метаболіти.

### **2.2.4 Вітамін E або α-токоферол**

Відсутність цього вітаміну порушує у тварин нормальний розвиток плоду (самиці) та сперматогенез (самці). Вперше був виділений із зародків пшениці в 1936 році. Токоферолі синтезуються тільки рослинами. В основному, токоферолі містяться в насінні (зернах пшениці, рису) та оліях (соняшниковій, кукурудзяній, бавовниковій, соєвій, рисовій та ін.), а також в зелених частинах рослин (салат, шпинат). Нестача вітаміну E у тварин призводить до безпліддя, враження міокарду, інших м'язових тканин, судин та нервової системи. Механізм його дії пов'язаний з антиоксидантною дією, направленою на запобігання окислення ненасичених жирних кислот в ліпідах мембран, впливом на біосинтез ферментів. У людей гіповітаміноз E

проявляється дуже рідко і його потреба для дітей (5 мг) та дорослих (10-25 мг) задовольняється при нормальному харчуванні.

### 2.2.5 Вітамін К

Велика група вітамінів коагуляції була відкрита в 1929 році. Вітамін К необхідний людині для нормалізації або прискорення згортання крові, є медіатором деяких біохімічних окисно-відновних перетворень. Вітаміном К особливо багаті зелені частини рослин, у достатній кількості виробляються вітаміни групи К мікрофлорою кишечника. Тому нестача цього вітаміну буває тільки у новонароджених.

## 2.3 Терпени

Велика група біологічно активних сполук рослинного та тваринного походження складає клас терпенів або ізопреноїдів, перші представники яких були виділені зі скибідару (терпентинова олія – звідси і назва цієї групи).

Біосинтез терпенів проходить аналогічно біосинтезу жирних кислот ( $\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$  - загальна формула жирних кислот), потім утворюється мевалонова кислота, через ряд перетворень у результаті фосфорилування, декарбоксилування та дегідратації утворюється ізопентилпірофосфат, який через ряд перетворень і взаємодії між собою утворює  $\text{C}_{10}$  та  $\text{C}_{15}$  – сполуки, що є ключовими для біосинтезу терпенів. Терпени підрозділяють на  $\text{C}_5$  – гемитерпени,  $\text{C}_{10}$  – монотерпени,  $\text{C}_{15}$  – сесквітерпени,  $\text{C}_{20}$  – дитерпени,  $\text{C}_{25}$  – сестертерпени,  $\text{C}_{30}$  – тритерпени,  $\text{C}_{40}$  – тетратерпени і  $\text{C}_{50}$  та більше – політерпени.

*Історичний нарис.* Терпени були відомі з давніх часів і використовувалися для бальзамування в Древньому Єгипті. Леткі олії рослин (Quinta essenta), що зумовлюють їх своєрідні запахи, є терпенами. Парфумерна промисловість використовує терпени як пахучі речовини.

Головним джерелом монотерпенів є ефірні олії ароматичних речовин, які одержують перегонкою з водяною парою, екстракцією за допомогою розчинників або жирів. Монотерпени нектару квітів *лаванди* (лавандова олія) – ізомер гераніюлу ланалоол та його ацетат. *Олія хмелю* – терпени мирцен та оцимен. Ефірні олії *троянди та герані* – дуже цінна духмяна речовина (S)-цитронеллол. Екстракт шипшини – містить гераніол та нерол.

Терпени широко застосовуються для приготування фарб, у хімії та медицині. До класу терпенів відносяться глікозиди (сапоніни), жовті та оранжеві пігменти рослин (каротиноїди, ксантофіли). До політерпенів належать такі природні сполуки як каучук, гуттаперча та поліпреноли, які є активними учасниками транспорту вуглеводів при біосинтезі стінок клітин.

## 2.4 Стероїди

До стероїдів відноситься велика група біологічно важливих сполук.

Серед стероїдів статеві гормони, гормони серцевих глікозидів, жовчні кислоти, вітаміни, алкалоїди, регулятори росту рослин. Свій початок стероїди беруть від стеринів – ациклічних ліпідоподібних речовин природного походження (холестерин, фітостерини та зоостерини –стерини рослин та тварин).

Найважливіші стероїди:

- *статеві гормони жіночі* (естрогени, гестагени) та *чоловічі* (андрогени) – необхідні для нормального розвитку та функціонування полових органів, розвитку вторинних полових ознак (вуса, рослинність на грудях та інших частинах тіла, низький голос), продовження життя. Цікаво, що естрогени входять до складу деяких рослин, наприклад кокосових горіхах, квітах верби і т.д.

Гестагени – стероїдні гормони, пов'язані з функцією яєчників, в яких знаходяться граафові пухирці, заповнені фолікулярною рідиною. З настанням полові зрілості ці пухирці поступово лопаються, звільняючи яйцеклітину (овуляція). Якщо яйцеклітина запліднилася, частина фолікула, що залишилася, розростається, утворює жовте тіло, що є своєрідною залозою внутрішньої секреції, яка зберігається протягом всього періоду вагітності і продукує гормон прогестерон. Прогестерон не дає дозрівати новим яйцеклітинам, викликає зміни оболонки матки, готуючи її до імплантації (прикріплення) заплідненої яйцеклітини та попереджає передчасні пологи. Відомі синтетичні аналоги прогестерону, які застосовуються при патологічних маткових кровотечах у вагітних жінок, входять до складу пероральних контрацептивних засобів та здатні ефективно призупиняти овуляцію. Однак, безконтрольне та довготривале використання таких протизаплідних засобів може мати небажані наслідки: призвести до призупинення розвитку жіночих статевих органів (при їх використанні в молодому віці), захворювання на діабет, порушення функції печінки.

- *гормони кори наднирників* (кортикоїди): дезоксикортикостерон, кортизол, кортизон, кортикостерон. Кортикоїди можна розділити на дві великі групи. Перша група бере участь в регуляції вуглеводного обміну, друга – регулює водний та іонний баланс. Кортикоїди дуже важливі для життя людини та тварини. Видалення наднирників призводить до загибелі.

- *велика група стероїдних глікозидів рослинного та тваринного походження* – серцевні глікозиди або кардіотонічні речовини. У малих концентраціях вони нормалізують роботу серцевого м'яза, але у великих кількостях можуть викликати зупинку серця.

- *ряд стероїдів рослинних глікозидів* мають властивості сильних детергентів. Вони одержали назву сапоніни. Ці сполуки використовують в якості піноутворювачів (наприклад, у вогнегасниках).

## 2.5 Антибіотики

*Антибіотики* – це природні або синтетичні речовини (як правило мікробного, рослинного або тваринного походження), які здатні в низьких концентраціях ( $10^{-3}$  –  $10^2$  мкг/мл) пригнічувати розвиток бактерій, грибів, найпростіших, вірусів. За останні 7-8 десятиліть застосування антибіотиків призвело до повного викорінення деяких епідемій та пандемій (наприклад, чума, холера), значно знизило летальні наслідки при хірургічних втручаннях, смертність при родах (сепсис), кількість інфекційних хвороб, таких як туберкульоз, менінгіт, пневмонія та ін.

*Історичний нарис.* Знаменитий лікар давнини Авіцена рекомендував лікувати гнійні інфекції за допомогою плісняви, але ідея боротьби з інфекціями за допомогою мікроорганізмів належить Пастеру. Ще в XVIII столітті гриби *Penicillium* були запропоновані для лікування інфікованих ран. Перший антибіотик – пеніцилін був виділений в 1928 році. Далі вивчення антибіотиків стало розвиватися швидкими темпами.

За механізмом дії антибіотики поділяють на 4 основні типи: інгібітори синтезу бактеріальної клітинної стінки, інгібітори рибосомального синтезу білку мікробної клітини, інгібітори синтезу нуклеїнових кислот та інгібітори функціонування цитоплазматичної мембрани.

*Класи антибіотиків.* Далеко не всі сполуки, що мають властивості як антибіотики (а їх кількість наближається до 5 тисяч!) допущені для застосування в медичній практиці. Найважливіші антибіотики терапевтичного призначення розподіляються на класи (*табл. 6*)

Наведені в таблиці класи не вичерпують всієї різноманітності антибіотиків, синтезованих в наш час. Причиною неухильного інтересу до пошуку нових антибіотиків, є токсичність існуючих антибіотиків, алергічні реакції, що викликаються ними, наростаюча стійкість патогенних мікроорганізмів до препаратів, що застосовуються, пошук нових засобів боротьби зі збудниками, які не піддаються дії вже існуючих антибіотиків. Основні шляхи пошуків такі:

1. Випробування нових продуцентів.
2. Нові хімічні модифікації існуючих антибіотиків.
3. Мутасинтез. Застосовуються мутантні штами мікроорганізмів, в яких заблоковано синтез окремих фрагментів молекули антибіотика. У середовище культивування вносять аналоги цих фрагментів, у результаті мікроорганізми використовують аналоги і таким чином одержують модифікований антибіотик.
4. Методами клітинної інженерії одержують нові антибіотики з новими комбінаціями фрагментів молекули.
5. Методами генної інженерії в геном мікроорганізму вводиться інформація про фермент, необхідний для модифікації антибіотика, що продукується.

*Фітонциди.* Антибіотики мають мікробне походження, але речовини з антибактеріальною активністю були знайдені і у рослин. Ці речовини названі



фітонцидами. Фітонциди виділені з соку часнику, цибулі, летких фракцій, одержаних з листя берези, черемхи, жовтої акації, з деревини кедра, коріння деяких рослин і.т.д. Тобто фітонциди це метаболіти рослин, що відносяться до класу терпенів, флавоноїдів, та ін. і мають бактерицидну або фунгіцидну дію. Фітонциди підсилюють захисні сили організму людини.

Отже, застосування антибіотиків повністю змінило хід лікування багатьох інфекційних захворювань і це застосування не має альтернативи.

З іншого боку, застосування антибіотиків призвело до появи цілого ряду негативних проявів: один з них – алергічні захворювання. Розповсюдження резистентних (стійких) штамів мікроорганізмів набуло величезного розмаху і для боротьби з ними необхідні ще більші зусилля мікробіологів, біохіміків, направлені на синтез нових та модифікації старих антибіотиків.

## 2.6 Токсини

*Токсини* – це отрути, що виділяються живими організмами. Вони мають високу біологічну активність та селективність. Взагалі, будь яка речовина в більшій або в меншій мірі токсична. Як говорив Т. Парацельс “Все є отрутою, ніщо не позбавлене отруйності, тільки доза робить отруту непомітною”. Яди та токсини широко використовуються в медицині: алкалоїди (стрихнін, морфін, тубокурарин та ін.), антибіотики, стероїдні глікозиди, зміїна та бджолина отрути.

Отрута колумбійських жаб, виділена із шкірних залоз – *батрахотоксин*, застосовувалася для отруєння стріл. У Китаї та Японії живуть отруйні жаби, отруту яких використовували для втамування зубного болю. Ядовиті саламандри відомі ще з античних часів.

Найбільш відома отрута риб – *тетродотоксин*. Найбільше його у риби голкобрюхи (фугу або кузовка), яка в Японії вважається делікатесною їжею. При приготуванні цих риб видаляються отруйні частини (молоки самців, печінка, шкіра) – решта йде для приготування страви. Така отрута зустрічається у бичкових риб, у Коста-Ріканських жаб, крабів та інших тварин.

*Токсини членистоногих*. У процесі еволюції багато членистоногих виробили хімічний засіб захисту та нападу – це оси, бджоли, шершні, павуки, скорпіони, жуки, мурахи, тисячоніжки.

Таблиця 6

## Найважливіші класи антибіотиків терапевтичного призначення (Сгоров І.Г., 1979; Д.Ланчіні, Ф.Паренті, 1985)

Клас	Типові антибіотики	Продуценти	На які мікроорганізми діє	Механізм дії	Труднощі терапевтичного застосування
β-Лактамні	Пеніциліни, цефалоспорины	Гриби родів <i>Penicillium</i> , <i>Cephalosporium</i>	Грамотригативні та грампозитивні бактерії	Порушення синтезу клітинної стінки	Алергічні реакції
Аміноглікозидні	Стрептоміцин, гентаміцин, канаміцин, тобраміцин, амікацин	Актиноміцети роду <i>Streptomyces</i> , бактерії родів <i>Micromonospora</i> , <i>Bacillus</i>	В основному грамотригативні бактерії	Необернене пригнічення синтезу білка	Токсична дія на слуховий нерв та нирки
Тетрацикліни	Одноіменні антибіотики	Актиноміцети роду <i>Streptomyces</i>	Грампозитивні і грамотригативні бактерії, рикетсії, хламідії, найпростіші	Зворотне пригнічення синтезу белка	Розповсюдження стійких штамів
Макроліди	Антибактеріальні: еритроміцин Противірикові та антипротозойні: полієни	Актиноміцети роду <i>Streptomyces</i> Теж саме	Грампозитивні бактерії Гриби, деякі найпростіші	Те ж саме Порушення плазматичної мембрани	Токсичність
Поліпептидні та депсипептидні	Поліміксини, граміцидини, бацитрацини	Різні мікроорганізми	В основному грамотригативні бактерії	Механізм дії різний	Висока токсичність

## 2.7 Пестициди

Пестицидами називають хімічні засоби захисту рослин, що застосовуються у сільському господарстві. До них належать *гербіциди* (боротьба з бур'янами), *фунгіциди* (боротьба з грибами), *інсектициди* (боротьба зі шкідливими комахами), *зооциди* (боротьба з гризунами), бактеріциди та антивірусні препарати.

Слово «пестициди» походить від двох латинських слів: *pestis* — зараза, чума; *cido* — вбиваю. Зазначені речовини використовуються для боротьби з різноманітними мікроорганізмами, грибами, комахами, гризунами, бур'янами тощо. Застосування пестицидів у рослинництві сприяє захисту і підвищенню врожайності сільськогосподарських культур.

За підрахунками спеціалістів своєчасне проведення заходів щодо захисту рослин дозволяє зберегти з кожного гектара до 2—3 ц зерна, не менше 5 ц рису.

Застосування пестицидів сприяє подоланню таких захворювань, як малярія, черевний тиф тощо.

Пестициди поряд із позитивними властивостями мають і негативні: вони токсичні для людини і тварин, корисних комах і рослин; деякі накопичуються в навколишньому середовищі, маючи високу стійкість, порушують екологічну рівновагу.

*Історичний нарис.* У 1939 р. швейцарський біохімік П. Мюллер випадково синтезував наймогутніший інсектицид ДДТ — дихлордифенілтрихлорметилметан. Оброблена ДДТ білизна зберігала інсектицидний ефект після 6—7-разового прання. Ефект обробки засіків і помешкань зберігався до 4 років. Проте поступово захоплення ДДТ стало змінюватися тривогою. Препарат накопичувався в ґрунті, живих організмах, що населяють землю, зберігався в довкіллі понад 10 років. Стали з'являтися стійкі до нього побутові шкідники. Проник ДДТ і в організм людини.

У всьому світі зафіксовано випадки гострих і хронічних отруєнь токсичними ефірами фосфорних кислот, тобто органічними сполуками, що містять фосфор. Відмічено випадки смертельних отруєнь хлорофосом, карбофосом, трихлорметафосом, фосфамідом і багатьма іншими пестицидами.

### 2.7.1 Класифікація пестицидів

Існує кілька типів класифікації пестицидів: за призначенням, за характером проникнення до організму, за хімічною структурою, за токсичністю, за стійкістю в навколишньому середовищі.

Залежно від *призначення* існують: інсектициди, фунгіциди, зооциди, акарициди, нематоциди, бактеріциди, гербіциди, регулятори росту, дефоліанти, репеленти, атрактанти й т. п.

За характером *проникнення до організму* пестициди бувають: контактні, дихальні (фуміганти), кишкові, системні.

За *токсичністю* вони поділяються на: особливо токсичні ( $LD_{50}$  до 50 мг/кг), високотоксичні ( $LD_{50}$  в межах 50—200 мг/кг), середньо-токсичні ( $LD_{50}$  в межах 200—1000 мг/кг), малотоксичні ( $LD_{50}$  — понад 1000 мг/кг).

За *стійкістю* пестициди бувають: дуже стійкі (період розкладання понад 2 роки), стійкі (6 місяців — 1 рік), помірно стійкі (1—6 місяців), малостійкі (1 місяць).

За *хімічною будовою* пестициди поділяють на неорганічні та органічні. Органічні, у свою чергу, — на *органічні сполуки, що містять фосфор* (ФОС); *хлорорганічні* (ХОС); похідні карбамінової кислоти; металоорганічні пестициди, наприклад РВП (ртутьвмісні пестициди); пестициди на основі природних сполук (піретроци) та ін.

Найзручніша класифікація пестицидів для токсикологічної хімії — це *класифікація за хімічною структурою*.

### **2.7.2 Характеристика фосфорорганічних сполук (ФОС)**

Найбільш перспективною групою пестицидів є група ФОС — органічних сполук із вмістом фосфору.

*Хімічна будова ФОС.* Усі ФОС є ефірами фосфорних кислот: фосфорної, тіофосфорної, дитіофосфорної, фосфонової, пірофосфорної: Хлорофос, Параоксан, Метафос, Карбофос, Октаметил.

*Фізико-хімічні властивості ФОС.* Більшість ФОС при кімнатній температурі — речовини рідкі, в'язкої консистенції, жовтуватого кольору, добре розчиняються в органічних розчинниках, погано — у воді, леткі. Неочищені препарати мають сильний запах часнику. Деякі речовини бувають кристалічними і можуть розчинятися у воді, наприклад, хлорофос.

Можливі зміни ФОС під дією ферментів організму з утворенням більш токсичних продуктів (при окисленні).

*Основні закономірності поведінки в організмі.* В організм ФОС потрапляють через рот, органи дихання, шкіру, слизові оболонки. Розподіл: печінка, нирки, мозок, легені. Найбільша кількість — у печінці та нирках. ФОС швидко руйнуються і виводяться з організму, не створюючи «депо», як ХОС.

*Метаболізм.* ФОС окислюються і гідролізуються в організмі. При гідролізі утворюються нетоксичні продукти, при окисленні можуть утворитись більш токсичні речовини (приклад наведено вище). Виділяються ФОС і продукти їх метаболізму із сечею, частково з калом, з грудним молоком.

*Токсична дія.* Усі ФОС у більшій або меншій мірі інгібують фермент холін естер азу, яка є каталізатором процесу гідролізу ацетилхоліну до холіну й оцтової кислоти.

При отруєнні ФОС в організмі накопичується ацетилхолін — передавач нервових імпульсів, чим і обумовлений симптомокомплекс отруєння.

Розрізняють чотири ступені отруєння ФОС: *легкий*, коли відбувається пригнічення холінестерази на 50 %, *середній* (пригнічення холінестерази на 60—70 %), *важкий* (на 80—90 %) і *смертельний* (95—99 %).

Всі ФОС мають функціональну кумуляцію, тобто спостерігається посилення токсичної дії при повторних впливах на організм.

### 2.7.3 Характеристика хлорорганічних сполук (ХОС)

*Летальна доза* ХОС від 5 до 60 г.

*Хімічна будова.* ХОС різноманітні за хімічною будовою, але їх об'єднує наявність атомів хлору в органічній молекулі. Усі ХОС можна поділити на:

- а) групу дихлордифенілтрихлорметилметану (ДДТ)
- б) групу гексахлорциклогексану (гексахлорану)
- в) групу поліхлорциклодієнів

*Фізико-хімічні властивості.* ХОС — тверді речовини, які не розчиняються або слабо розчиняються у воді, добре — в органічних розчинниках, леткі, дуже стійкі сполуки. Вони не руйнуються при кип'ятінні, навіть у присутності соди. ХОС — ліпідорозчинні неелектроліти.

Встановлено, що через 7 років після обробки ґрунту в ньому ще зберігається 29 % початкової кількості ХОС, в іншому випадку було визначено 80 % вихідної кількості. ДДТ і деякі інші ХОС можуть зберігатися в ґрунті 10 і більше років. Стійкість речовини у навколишньому середовищі називають *персистентністю*. Такі ХОС, як ДДТ, альдрин, дилдрин, заборонені. Заборону на застосування ДДТ у сільському господарстві в колишньому СРСР було введено ще 1968 року.

*Основні закономірності поведінки в організмі.* В організм ХОС надходять через рот з їжею і водою, через дихальні шляхи з повітрям, через шкіру при контакті з пестицидами, також проникають через плаценту від матері до дитини. У літературі описаний випадок отруєння жінки і двох її дітей віком 1 і 7 років компотом із ягід смородини й агрусу, зібраних з кущів, оброблених ДДТ. Старша дитина померла при явищах гіпертермії та клоніко-тонічних судом. Стан однорічної дитини залишався важким протягом 4 днів, а потім поступово поліпшився. Мати видужала на шосту добу. Описано випадок смертельного отруєння робітника, що пролив собі на одяг суспензію хлордану.

*Розподіл в організмі.* ХОС накопичуються в тканинах і органах, створюючи в них «депо» пестицидів, переважно в жировій тканині. З «депо» ХОС можуть надходити у кров протягом тривалого часу (іноді кілька років).

*Виділення.* ХОС з організму виділяються із сечею, калом, грудним молоком. У зв'язку з останнім можливе отруєння немовлят материнським молоком.

*Механізм токсичного впливу* ХОС на організм людини до кінця не встановлений. Вважають, що початковим чинником дії ХОС є пригнічення ферментних систем організму. Відбувається ушкодження мембран клітин внаслідок переокислення ліпідів, а відтак і порушення обмінних процесів.

#### **2.7.4 Методи дослідження об'єктів біологічного походження на ХОС та ФОС**

*Об'єкти дослідження на ФОС:* шлунок із вмістом, печінка з жовчним міхуром, нирка, тонкий і товстий кишечник із вмістом, кров, сеча.

При інгаляційному отруєнні в усіх випадках беруть легені, а за деякими рекомендаціями, і мозок.

*Об'єкти дослідження на ХОС:* шлунок із вмістом, печінка, нирка, мозок, жирова тканина (сальник).

Крім органів і біологічних рідин людини чи тварин, об'єктами аналізу на пестициди можуть бути: препарати пестицидів, продукти харчування, вода, повітря, фураж.

*Методи ізолювання пестицидів.* Існує велика кількість методик ізолювання пестицидів з об'єктів рослинного і тваринного походження. Їх різноманітність пояснюється тим, що як об'єкти, так і аналізовані сполуки мають різні властивості. Для ізолювання пестицидів використовують методики, в основу яких покладено процес екстракції отрут органічними розчинниками (гексаном, ефіром, хлороформом) або метод дистиляції з водяною парою.

*Методи виявлення пестицидів.* Для аналізу екстрактів використовують такі методи дослідження: хімічний, біохімічний, тонкошарової хроматографії, газорідинної хроматографії.

### **2.8 Біологічно активні добавки**

Згідно ст. 1 Закону України "Про якість та безпечність харчових продуктів та продовольчої сировини" **біологічно активна добавка** (БАД) – це "речовини або їх суміші, що використовується для надання раціону харчування спеціальних лікувальних чи лікувально-профілактичних властивостей". У російському законодавстві БАД визначається як "природные (идентичные природным) биологически активные вещества, предназначенные для употребления одновременно с пищей или введения в состав пищевых продуктов".

Поняття БАД порівняно нове для нашої країни, але не нове в світі. Наприклад, в Японії БАД застосовують більше 50 років, в США — два десятиліття. Згідно визначенню комісії ВООЗ, харчова добавка (food additives) — "речовина, яка не використовується для харчування в чистому вигляді і не являється інгредієнтом харчових продуктів (незалежно від наявності в ній харчової цінності), а спеціально додається до їжі з технологічною метою, наприклад для покращення органолептичних властивостей в процесі виробництва, обробки, упаковки, транспортування та зберігання харчових продуктів...)", тобто харчові добавки це емульгатори, ароматизатори, антиокислювачі, барвники і т. д. (всього 23 класи).

В цілому, біологічно активні добавки це природні або ідентичні природним речовини, одержані з рослинної, тваринної або мінеральної сировини, а також шляхом хімічного або мікробіологічного синтезу. Вони можуть включатися до складу продуктів харчування, напоїв, або використовуватися самостійно в різних формах, з метою забезпечення організму людини необхідною кількістю незамінних для харчування речовин та деяких регуляторів фізіологічних функцій органів та систем організму.

Традиційно біологічно активні харчові добавки розділяють на три основних групи: нутрицевтики, еубіотики та парафармацевтики.

**Нутрицевтики** — біологічно активні харчові добавки, що застосовуються для корекції хімічного складу харчування людини, для доведення вмісту натуральних макро- і мікронутрієнтів до рівня необхідного для добового раціону, які відповідають фізіологічним вимогам здорової людини. Нутрицевтики це джерело вітамінів, поліненасичених жирних кислот, макро- та мікроелементів, харчових волокон, та ін. Нутрицевтики в функціональному плані доповнюють дефіцит есенціальних харчових речовин, направлено змінюють метаболізм речовин, підвищують неспецифічну резистентність організму до дії негативних факторів навколишнього середовища, мають імуномодельючу дію, зв'язують і виводять ксенобіотики. Кінцева мета використання нутрицевтиків – покращення "харчового статусу" людини, зміцнення здоров'я та профілактика ряду захворювань.

**Еубіотики** — біологічно активні харчові добавки, до складу яких входять живі мікроорганізми та/або їх метаболіти, які мають нормалізуючу дію на склад та біологічну активність мікрофлори органів травлення.

**Парафармацевтики** — біологічно активні харчові добавки, що застосовуються для профілактики, допоміжної терапії та підтримки фізіологічних меж функціональної активності органів та систем. Парафармацевтики — органічні кислоти, біофлавоноїди, біогенний амін, олігосахариди та ін. Парафармацевтики здатні підвищувати адаптаційні можливості організму в екстремальних умовах.

Деякі медики вважають, що всі необхідні вітаміни та мікроелементи людина здатна одержувати з звичайних продуктів харчування. В денному раціоні свіжих продуктів харчування не вистачає важливих вітамінів та мікроелементів, тому що за останнє століття їх вміст в рослинах знизився. Змінився склад ґрунтів, опадів. Тому для підтримки здоров'я людині абсолютно необхідно вживати нутрицевтики. Великий Лайнус Полінг, в свій час, взагалі стверджував, що всі ми живемо в стані хронічної цинги через недостатність вітаміну С, який потрібен організму постійно, тому що людина не синтезує цей вітамін і не здатна його накопичувати.

З іншого боку, деякі медики стверджують, що вживання харчових добавок може мати негативний вплив на організм при медикаментозному лікування і що самі вони при вживанні у великій кількості можуть бути шкідливими.

Дійсно, в деяких випадках харчові добавки заважають дії фармакологічних препаратів. Наприклад, не можна вживати магній, кальцій та інші мінерали одночасно з тетрацикліном - вони просто нейтралізують цей антибіотик. В цілому ж в період прийому ліків як ніколи підвищується потреба організму в вітаміні С та В, в засобах, що підтримують роботу печінки.

## 2.9 Феромони

Велике значення в житті та поведінці комах, їх спілкуванні один з одним відіграють низькомолекулярні речовини, що виділяються ендокринними залозами і використовуються комахами як засіб передачі інформації. Серед них є сполуки, що викликають стан тривоги, агресії, регулюють поведінку у бджіл, термітів, мурах), застосовуються для мічення території, речовини, що виділяються самицями щоб привабити самців. Ця група біорегуляторів називається феромонами (слово утворене від двох грецьких слів “феро” – переносити, “монос” - збуджувати).

У 1959 році ці біорегулятори одержали наступне визначення: “Феромони – це речовини, що виробляються та виділяються в навколишнє середовище живими організмами (часто за допомогою спеціальних залоз) і викликають специфічну відповідну реакцію або характерну поведінку у особин того ж біологічного виду, що сприймають цю інформацію”. Ця специфічна реакція-відповідь виникає на відстані за рахунок розповсюдження феромонів в середовищі існування виду. Є відомості про наявність феромонів у багатьох тварин, але найбільш вивчені вони у комах.

Перший феромон з пахучих залоз самок тутового шовкопряда, виділений в кінці 50-х років минулого століття був названий бомбіколом. Для ідентифікації цього феромону вченому знадобилося 20 років роботи та 500 тис. самок тутового шовкопряда. С тих пір роботи по виділенню феромонів розвивалися дуже швидко. На 1983 рік було виділено біля 600 феромонів. По своїй природі феромони можна віднести до різних класів органічних речовин.

За мільйони років свого існування комахи виробили досконалий механізм сприйняття (хеморецепції) запаху, в тому числі і феромонів. Антени – вуса комах мають численні кінцеві органи – сенсилли, дуже чутливі до запахів, що переносяться потоками повітря. Механізм такої хеморецепції не зовсім зрозумілий, але встановлено, що специфічний сигнал хімічної сполуки, що сприймається сенсиллами, трансформується в електричний, який сприймається уже мозком. Для виявлення сигналу досить навіть однієї молекули феромона. Мінімальна концентрація феромона бомбікола викликає реакцію у відповідь у 50% досліджуваних самців тутового шовкопряда, складає  $10^{-12}$  мкг/мл. У тарганів поріг сприйняття ще вище:  $10^{-14}$  мкг/мл, тобто 25 молекул феромона на 1 мл повітря!

Тривалий час питання про здатність людини виділяти феромони залишалось дискусійним, однак за останні роки нові відкриття підтверджують їх існування. В журналі “Здоров’я України” №18, вересень



2005 року надруковано статтю “У пошуках шостого чуття”, написану вченими Медичної академії міста Познань, Польща.

Кожна людина стикалася з тим, що прийнято називати “шостим чуттям” – інтуїцією, ірраціональною підказкою в прийнятті рішення. Вчені вважають, що відповідають за це *феромони* – субстанції без запаху, які виділяються в організмі. Саме вони викликають у нас перші ознаки зацікавленості іншою людиною, відповідають за виникнення відчуття антипатії або симпатії до особи з якою познайомилися.

Ще з античних часів відомо 5 типів людського чуття: дотик, зір, слух, смак та нюх. Відкриття феромонів у людей дає підстави вважати, що існує шосте чуття – феромонове. Воно сприймається в категорії інтуїції та передчуття. Існує багато хімічних сполук, здатних викликати запахові відчуття і певним чином визначати поведінку людини. Найтоншими та найважчими для розшифровки є поведінкові реакції, пов’язані з феромонами. Виявилось, що у людей є багато спільного з комахами та тваринами, які використовують принципи феромонового спілкування для регулювання поведінки в межах свого виду. У випадку людини ситуація ускладнюється багатовекторністю поведінки, домінуючою роллю свідомості та національних, соціальних та культурних стереотипів. Тим не менше, феромони відповідають за наше самопочуття, настрій, сексуальні та соціальні відносини між людьми. Система розпізнавання феромонів поряд з рештою видів чуття, очевидно, може бути основою міжлюдського хімічного спілкування.

Оскільки об’єктивне існування феромонів не викликає сумнівів, то в людському організмі повинна існувати система ідентифікації цих речовин та шляхи, якими ці хімічні сигнали досягають мозку. Детектором (детектор це прилад для перетворення високочастотних коливань, які не сприймаються слуховим нервом, в низькочастотні, які ми чуємо, наприклад, в телефоні) феромонів є невеликий так званий лемешев-носовий орган, розташований в передній частині носових ходів, котрий ще донедавна вважався рудиментом. Він характеризується унікальними хемосенсорними властивостями. Цей орган уловлює феромонові субстанції, що виділяються іншими людьми і перетворює їх на сигнали, що передаються до гіпоталамуса, який вважається емоцієгенною структурою у людей. Гіпоталамус є найдавнішою частиною мозку, яка контролює базові поведінкові реакції.

### **Контрольні запитання**

1. Охарактеризуйте основні групи фізіологічно активних сполук.
2. Методи ідентифікації фізіологічно активних сполук.
3. Роль вітамінів у життєдіяльності живого організму.
4. Наведіть класифікацію антибіотиків терапевтичного призначення.
5. Класифікація та закономірності поведінки пестицидів в організмі?
6. Характеристика БАДів.

### 3. ТОКСИКОЛОГІЯ

**Токсикологія** – розділ медицини, що вивчає небажані та побічні ефекти хімічних сполук, в тому числі і лікарських засобів, на біологічні системи.

*Історія токсикології.* Історія розвитку токсикології з давніх часів і до нашого часу тісно пов'язана з фармакологією, оскільки ці дві науки пов'язані загальними методами біологічних досліджень. В середні віки вчення про отрути та протиотрути було описано арабськими лікарями. Відомий серед них Абу Алі Ібн Сіна (Авіцена – 980-1037 рр.).

При вивченні фармакології лікарі велике значення приділяли отруєнням, тобто одночасно ставали токсикологами. Зі збільшенням числа харчових отруєнь серед людей та сільськогосподарських тварин токсикологія поступово виділялася в самостійну науку.

Отже, **токсикологія** – це наука, яка вивчає закони взаємодії живого організму та чужорідних речовин (ксенобіотиків). До ксенобіотиків належать чужорідні організму людини речовини, токсичні речовини та лікарські засоби.

Сучасна токсикологія це наука, яка розглядає отрути і отруєння з різних позицій. Вона поділяється на *загальну* та *спеціальну*. Загальна токсикологія визначає загальні закономірності токсичної дії окремих отрут і визначає засоби лікування отруєнь, викликаних цими отрутами. Спеціальна токсикологія розділяється на кілька відносно самостійних галузей: судову, промислову, харчову та військову. Найбільш давньою галуззю токсикології є *судова* токсикологія, яка вивчає отрути та отруєння в аспекті питань, що цікавлять судово-слідчі органи і входить до розділу судової медицини.

Великий внесок у розвиток фармакології та токсикології вніс український вчений професор Баженов С.В., який працював на кафедрі фармакології та токсикології Української сільськогосподарської академії. У наш час відомими токсикологами є академік Ісак Михайлович Трахтенберг – керівник відділу промислової токсикології Інституту медицини праці АМН України, голова комісії лікарської токсикології Державного фармакологічного центру МОЗ України, доктор біол. наук, професор Валентина Миколаївна Коваленко – керівник відділу загальної токсикології Інституту фармакології та токсикології АМН України.

В токсикології існує юридичне і загальнобіологічне поняття отрути.

З юридичної точки зору до отрут відносяться хімічні сильнодіючі отруйні речовини, які в високих дозах викликають захворювання або смерть і тому належать до особливої категорії, підлягають обліку та зберіганню в особливих умовах. Такі отрути внесено в законодавчий список. До цієї категорії отрут відносяться також лікарські засоби групи «А», виготовлені з використанням отруйних речовин.

*Загальнобіологічне та токсикологічне* визначення отрути чітко сформулював професор Української сільськогосподарської академії С.В.Баженов: «Отрута – це хімічна речовина, яка при взаємодії з живим

організмом за певних умов (надмірна доза, індивідуальна реакція) може викликати розвиток патологічних процесів, навіть до летального наслідку.

**Отруєння** – це патологічний процес, що виникає в результаті впливу на живий організм отруйних речовин, що надходять з продуктами харчування, водою, повітрям.

### 3.1 Ветеринарна токсикологія

Ветеринарна токсикологія – це наука, що вивчає дію отруйних речовин на організм тварин з метою розробки методів діагностики, профілактики та лікування тварин при отруєнні.

*Завдання ветеринарної служби:*

-охорона сільськогосподарських тварин від комах та кліщів, які переносять збудників особливо небезпечних інфекційних хвороб, спільних для людей та тварин;

-охорона продуктивних тварин, птиці, риби, бджіл від токсичної дії пестицидів, мінеральних добрив та інших хімічних речовин;

- контроль накопиченням пестицидів в кормах, воді, тваринних продуктах;

- діагностика, профілактика та лікування отруєнь тварин пестицидами, мінеральними добривами, отруйними рослинами та іншими токсичними речовинами.

*Відповідно до цього ветеринарна токсикологія повинна проводити:*

1. Дослідження токсичності та кумулятивних властивостей нових пестицидів, мінеральних добрив, отруйних рослин, кормових добавок при гострій та хронічній інтоксикації з врахування проявів негативного впливу на:

а) *репродуктивну функцію* (здатність до розмноження);

б) *життєздатність* молодняка;

в) *гонадотоксична дія* (токсичний вплив на статеві органи, проявляється в зниженні репродуктивної функції, зупинці розвитку на різних стадіях ембріогенезу та спадкові вродженні);

г) *ембріотоксична дія* (підвищення рівня ембріональної смертності, виникнення вад розвитку плода);

д) *мутагенна дія* (збільшення частоти народження потомства з спадковими та канцерогенними захворюваннями);

є) *тератогенна дія* (відхилення розвідку плода в постнатальному періоді);

ж) *алергізуюча дія*;

2. Вивчення біохімічного та молекулярного механізму токсичної дії отруйних речовин, їх метаболізму та біотрансформації в організмі різних видів тварин;

3. Експериментальне дослідження закономірностей всмоктування (токсикокінетика), розподілу, накопичення отруйних речовин та динаміки їх виділення з організму тварин;

4. Розробку методів діагностики, профілактики та антидотної терапії при отруєнні тварин пестицидами, мінеральними добривами, отруйними рослинами та іншими токсичними речовинами;

5. Розробку методів виділення та кількісного визначення токсичних речовин у кормах, воді, органах та тканинах тварин, тваринних продуктах харчування, об'єктах зовнішнього природного середовища (пасовища, джерела води для тварин);

6. Розробку методів токсикологічної ветеринарно-санітарної експертизи та визначення біологічної повноцінності молока, жирів, яєць, м'яса, риби, меду при отруєннях тварин, риби, бджіл пестицидами, мінеральними добривами та іншими токсичними речовинами з метою забезпечення їх безпечності для харчування населення.

Ветеринарна токсикологія в рішенні своїх завдань тісно пов'язана з цілим рядом наукових дисциплін, таких як: фармакологія, біохімія, молекулярна біологія, неорганічна, органічна, аналітична хімія, ботаніка, зоологія, паразитологія, захист рослин, фізіологія, патологічна фізіологія тварин, клінічна діагностика, ветеринарна терапія, ветеринарно-санітарна експертиза.

*Завдання ветеринарної токсикології:*

- визначення ступеню токсичності речовин, що застосовуються для харчування, лікування та інших цілей у тваринництві;

- визначення токсикодинаміки та токсикокінетики таких речовин з врахуванням віддалених негативних наслідків (гонадотоксичної, ембріотоксичної, тератогенної та алергенної дії);

- розробка методів діагностики, профілактики, лікування тварин та методів токсикологічної ветеринарно-санітарної експертизи м'яса, молока, яєць та інших продуктів тваринництва.

### ***3.1.1 Параметри токсичності отруйних речовин***

*Основними параметрами токсичності отруйних речовин є:*

$Lim\ as$  – мінімальна гранична доза токсичної речовини в мг/кг маси при однократному введенні всередину або підшкірно, що викликає у тварин порушення життєдіяльності організму- це границя однократної (гострої) дії;

$LD_0$  – максимально переносима доза отруйної речовини в мг/ кг маси тіла при однократному введенні всередину або підшкірно, що викликає токсичний ефект без летальних наслідків протягом 2-тижневого спостереження;

$LD_{50}$  – середньосмертельна доза токсичної речовини в мг/кг маси, що викликає загибель 50% тварин при однократному введенні всередину або підшкірно протягом 2-тижневого спостереження;

$LD_{100}$ - смертельна доза токсичної речовини, що викликає загибель всіх піддослідних тварин за тих же умов;

$Cl_{50}$  та  $Cl_{100}$  – летальні концентрації токсичної речовини в повітрі в  $mg/m^3$ , що викликають відповідно 50 та 100%-ву загибель піддослідних тварин при температурі  $20^{\circ}C$  при експозиції 2 години;

ГДК – гранично допустима концентрація в повітрі в  $mg/m^3$ , що не викликає клінічних ознак токсичного прояву у піддослідних тварин;

ОБРР – орієнтовний безпечний рівень речовини в повітрі  $mg/m^3$ ;

КМІО – коефіцієнт можливого інгаляційного отруєння. Являє собою відношення концентрації насичення речовини в повітрі в  $mg/m^3$  при  $20^{\circ}C$  до середньосмертельної дози ( $Cl_{50}$ ) для піддослідних тварин.

ступінь токсичного враження хімічною речовиною характеризується величиною зони гострої токсичної дії, що визначається відношенням  $LD_{50}$  до мінімальної граничної дози при однократному введенні;

МДР – максимально допустимий рівень вмісту пестицидів в продуктах харчування в  $mg/kg$ .

У таблиці 7 наведено класифікацію хімічних речовин залежно від концентрації та дози.

З даних таблиці видно, що належність хімічних речовин до відповідного класу небезпечності визначається величиною 7 показників:

- гранично допустима концентрація (ГДК) в повітрі, менше  $0,1 mg/m^3$  для I класу небезпечності і більше  $10,0 mg/m^3$  для IV класу небезпечності;

- величина  $LD_{50}$  при введенні в шлунок, менше  $15 mg/kg$  маси для I класу до більш ніж  $5000 mg/kg$  маси для IV класу небезпечності;

- величина  $LD_{50}$  при нанесенні на шкіру, менше  $100 mg/kg$  маси для I класу до більш ніж  $2500 mg/kg$  маси для IV класу небезпечності;

- величинами середньосмертельної концентрації ( $Cl_{50}$ ) в повітрі, від менш ніж  $500 mg/m^3$  для I класу до більш ніж  $50000 mg/m^3$  для речовин IV класу небезпечності.

Летальна доза (L-від лат. Letalis - смертельний) - це кількість отруйної речовини, яка при попаданні в організм викликає смерть. Існує поняття абсолютно смертельних доз, які викликають загибель 100 % уражених ( $LD_{100}$ ) і середньо-смертельних, коли смерть настає у 50 % уражених ( $LD_{50}$ ).

Доза, яка виводить з ладу (ID від англ. Incapacitate - виводити з ладу) – це кількість отруйної речовини, яка при попаданні в організм виводить його з ладу і може привести до летального кінця. Вирізняють  $ID_{100}$  або  $ID_{50}$ .

Порогова доза (PD-від англ. Primary - початковий) - це кількість отруйної речовини, яка викликає початкові ознаки ураження організму. Існують  $PD_{100}$  і  $PD_{50}$ .

## Класифікація хімічних речовин за ступенем небезпечності

Показник	I клас, надзвичайно токсичні	II клас, дуже токсичні	III клас, токсичні	IV клас, малотоксичні
Гранично допустима концентрація (ГДК) у повітрі, мг/м <sup>3</sup>	менше 0,1	0,1-1,0	1,0-10,0	більше 10,0
Середньосмертельна доза в шлунок, мг/кг маси	менше 15	15-150	151-5000	більше 5000
Середньосмертельна доза на шкіру, мг/кг маси	менше 100	100-500	501-2500	більше 2500
Середньосмертельна концентрація у повітрі, мг/м <sup>3</sup>	менше 500	500-5000	5001-50000	більше 50000
Коефіцієнт можливого інгаляційного отруєння (КМІО)	більше 300	300-30	29-3	менше 3
Зона гострої дії LD <sub>50</sub> /Lim ac	менше 6,0	6,0-18,0	18,1-54,0	більше 54,0
Зона хронічної дії Lim ac/Lim ch	більше 10,0	10,0-5,0	4,9-2,5	менше 2,5

Більш строгою є класифікація пестицидів за ступенем небезпечності, запропонована Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ) в 1979 році. Вона заснована на визначенні LD<sub>50</sub> для щурів при оральному та шкірно-резорбтивному введенні хімічних речовин в твердому та рідкому стані (табл. 8).

Таблиця 8

**Класифікація пестицидів за ступенем небезпечності  
(запропонована ВООЗ в 1979 році)**

Клас речовин	LD <sub>50</sub> , для тварин мг/кг маси			
	при надходженні через рот		при надхлдженні через шкіру	
	тверді речовини	рідкі речовини	тверді речовини	рідкі речовини
Надзвичайно токсичні	5 або менше	20 або менше	10 або менше	40 або менше
Дуже токсичні	5-50	20-200	10-100	40-400
Помірно токсичні	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
Малотоксичні	більше 500	більше 2000	більше 1000	більше 4000

До *надзвичайно або високотоксичних* хімічних речовини відносяться:

- деякі сполуки металів (миш'яку, ртуті, кадмію, свинцю, талію, цинку та ін.);

- речовини, що містять ціанисту групу (синильна кислота та її солі, нітриди, органічні ізоціанати та ін.);

- сполуки фосфору (хлорид фосфору, оксихлорид, фосфін і т.п.);

- фторорганічні сполуки (фторетанол, фтороцтова кислота та її ефіри);

- карбоніли металів (тетракарбоніл нікелю, пентакарбоніл заліза та ін.);

- галогени (хлор, бром) та ряд інших сполук.

До *дуже небезпечних сильнотоксичних хімічних речовин* відносяться:

- мінеральні та органічні кислоти (сірчана, азотна, фосфорна та ін.);

- луги (аміак, їдкий калій та ін.);

- сполуки сірки (сірководень, розчинні сульфіді та ін.);

- деякі спирти та альдегіди кислот;

- органічні та неорганічні нітро- та аміносполуки (анілін, нітробензол, нітротолуол, аміннітрид та ін.);

- гетероциклічні сполуки;

- хлор та бромвмісні сполуки вуглеводнів.

*Помірно токсичні, малотоксичні та практично нетоксичні* – це хімічні речовини, які є безпечними для людини.

Хімічні речовини, в т.ч. і нетоксичні, можуть негативно впливати на людський організм, враховуючи період їх дії, кумулятивні властивості, стан

самого організму та ін. Але причиною масових уражень людей може стати лише група сильнодіючих отруйних речовин (СДОР), які в аварійній ситуації легко переходять в атмосферу, воду, ґрунт.

Особливу групу отруйних речовин складають пестициди (хімічні препарати боротьби із шкідниками та бур'янами в сільському господарстві).

Залежно від призначення їх поділяють на:

- інсектициди (знищують шкідливих комах);
- фунгіциди (знищують хвороботворні гриби);
- зооциди (знищують хребетні тварини);
- бактерициди (знищують хвороботворні бактерії);
- гербіциди (знищують бур'яни);
- арборициди (знищують деревну та чагарникову рослинність);
- акарициди (знищують кліщів);
- дефоліанти (знищують листя рослин);
- дефлоранти (знищують квітки рослин);
- нематоциди (знищують слимаків) та ін.

Багато пестицидів мають здатність накопичуватись, тобто кумулюватися, бути джерелом отруєння організмів, які ними харчуються.

Більшість перелічених хімічних речовин (в т.ч. і практично нетоксичних) може стати причиною ураження людини, але масові ураження (в результаті аварійного витоку речовин) можуть викликати не всі, навіть високотоксичні, речовини. Всі хімічні речовини, при надходженні у навколишнє середовище в кількостях, які перевищують певні гранично допустимі значення, стають причиною його забруднення та отруєння, що в кінцевому результаті негативно впливає на людський організм. Частина хімічних речовин в аварійних ситуаціях, які виникають при порушенні правил їх виробництва, застосування, зберігання, перевезення, можуть стати причиною масового ураження людей. Такі хімічні речовини називаються сильнодіючими отруйними речовинами (СДОР). Деякі з них можуть бути використані в якості бойових речовин.

Існують різноманітні класифікації отруйних речовин (ОР), створені з точки зору спеціалістів різних профілів (медиків, хіміків, військових і т.п.). В наш час найбільшого поширення набули фізіологічна і токсична класифікації. В основі фізіологічної класифікації лежать поділ ОР за їх найбільш вираженою дією на організм або за першими ознаками ураження.

Згідно з цією класифікацією всі ОР поділяються на шість груп:

- нервово-паралітичні;
- шкірноаривні;
- загальноотруйні;
- задушливі;
- психотропні;
- подразливі.

Деякі ОР можуть одночасно належати до однієї чи кількох груп, оскільки характеризуються комплексною дією.



Згідно класифікації за бойовим призначенням ОР поділяються на групи. До групи отруйних речовин смертельної дії відносяться ті, які призначені для знищення живої сили (нервово-паралітичні, шкірноаривні і задушливі). До групи речовин тимчасової дії відносяться психотропні і подразнюючі речовини. Цей поділ умовний, оскільки кінцевий результат дії ОР залежить від її токсичності, дози, яка потрапила в організм, і умов застосування.

Кількісно токсичність ОР оцінюють дозою (С-доза для ОР, які діють інгаляційним шляхом, Д-доза для ОР, які діють шкірно-резорбтивно). Токсичність однієї і тієї ж речовини різна для різних організмів і залежить від шляху надходження в організм. Вирізняють смертельні (летальні), порогові дози і ті, які виводять з ладу.

Велике значення в оцінці небезпеки хімічних сполук має ступінь їх *кумулятивної дії*, тобто здатності речовин накопичуватися в організмі і викликати ряд патологічних змін, які ведуть до виникнення хронічних захворювань. Кумулятивна дія речовин є результатом сукупної дії багатьох факторів, у тому числі процесів всмоктування ОР, хімічних перетворень, накопичення в найбільш уразливих системах чи органах, виведення ОР з організму. Кожна шкідлива речовина характеризується своїми кумулятивними властивостями, тобто має свій коефіцієнт кумуляції. Розроблена класифікація ОР за таким коефіцієнтом, відносить до першої групи речовини з різко вираженою кумуляцією (коефіцієнт менше 1), до другої – з вираженою кумуляцією (коефіцієнт - 1-3), третьої – з помірною (коефіцієнт - 3-5), четвертої – зі слабо вираженою (коефіцієнт більше 5).

Для характеристики токсичності ОР користуються показником граничної концентрації, під якою розуміють найменшу кількість речовини, яка може викликати певну фізіологічну реакцію, характерну для первинного ураження. У повсякденній практиці широко застосовується поняття гранично допустимих концентрацій (ГДК) хімічних речовин у навколишньому середовищі. ГДК для отруйних речовин – це максимально допустима концентрація, яка при постійній дії на людину за добу не викликає патологічних змін в організмі. Цей показник не використовується для оцінки аварійних ситуацій у зв'язку з різним часом дії ОР на організм людини в аварійному стані.

При оцінці токсичності СДОР необхідно враховувати не лише характер і ступінь токсичності, а й шляхи надходження ОР в організм. Для ОР введені дози при інгаляційних (дихальних) і шкірно-резорбтивних (нашкірних) ураженнях, що дозволяє порівняти дози і оцінити ступінь ураження людей.

Інгаляційні дози вимірюються в грамах за хвилину на кубічний метр ( $\text{г хв/м}^3$ ,  $\text{г с/м}^3$ ,  $\text{мг хв/л}$ ), а шкірні – в грамах на одиницю поверхні людського тіла або на одиницю поверхні або маси ( $\text{мг/см}^2$  і т.п., або  $\text{мг/кг}$ ) або на людину ( $\text{мг/люд.}$ ,  $\text{г/люд.}$ ).

Токсикологічні характеристики ОР, які застосовуються при бойових діях, наведено в таблиці 9.

## Токсикологічні характеристики отруйних речовин

Назва	Ураження через органи дихання	Ураження через шкіру LD <sub>50</sub> , г/люд	Порогова доза
	LC <sub>50</sub> , г хв/м <sup>3</sup>	IC <sub>50</sub> , г хв/м <sup>3</sup>	PC <sub>50</sub> , г хв/м <sup>3</sup>
VX	0,035	0,005	110 <sup>-4</sup>
Зоман	0,05	0,025	210 <sup>-4</sup>
Зарин	0,1	0,055	2510 <sup>-4</sup>
Іприт	1,3	0,2	2510 <sup>-3</sup>
Синильна к-та	2	0,3	1510 <sup>-3</sup>
Хлорціан	11	7	1210 <sup>-3</sup>
Фосген	3,2	1,6	810 <sup>-1</sup>
BZ	110	0,11	110 <sup>-2</sup>
Хлорацетофенон	85	0,08	210 <sup>-2</sup>
Адамсит	30	0,03	110 <sup>-4</sup>

## 3.1.2 Токсикокінетика та токсикодинаміка отруйних речовин

Важливими розділами ветеринарної токсикології є токсикокінетика та токсикодинаміка отруйних речовин в організмі тварин.

**Токсикокінетика** розглядає закономірності всмоктування, розподілення, накопичення, метаболізму (біотрансформації) та виведення отруйних речовин при одноразовому та багаторазовому отруєнні тварин.

Основними шляхами введення отруйних речовин в організм тварини є шлунково-кишковий тракт, органи дихання, шкірні покриви.

Всмоктування отруйних речовин проходить, в основному, через слизові оболонки ротової порожнини та тонкого кишечника.

Розподілення та накопичення токсичних речовин в органах і тканинах залежить від наступних факторів:

- 1) кровонаповнення органу;
- 2) фізико-хімічних властивостей отруйної речовини, обумовлених розчиненням та сорбцією у тканинах та органах;

- 3) біохімічної спорідненості отруйної речовини з відповідними тканинами та органами-мішенями прицільної дії отруйної речовини.

Фосфорорганічні речовини накопичуються, в основному, в головному та спинному мозку, легенях, серці, печінці, нирках, селезінці, скелетних м'язах.

Хлорорганічні речовини накопичуються в головному та спинному мозку, печінці, нирках, тонкому кишечнику, селезінці, скелетних м'язах, генеративних органах, жировій тканині.

Ртутно-органічні речовини накопичуються у всіх життєво важливих органах: головному мозку, печінці, нирках, м'язах, серце, кишечнику.

Солі важких металів (свинець, кадмій, кобальт, мідь, нікель) накопичуються в печінці, нирках, головному мозку, підшлунковій залозі, легенях, серці, кістках, кишечнику.

**Токсикодинаміка** розглядає механізм токсичного впливу отруйних речовин на організм тварин з врахуванням початкового впливу отрути, що складає основу токсикологічного ефекту.

Діагностика отруєнь тварин хімічними речовинами, отруйними рослинами оснований на:

- 1) анамнестичних даних (склад кормів, режим споживання їжі та води, якість підстилки);
- 2) аналізі клінічних симптомів отруєння ( тремор, судоми, паралічі, асфіксія (затримка дихання), морфологічних та біохімічних змін крові;
- 3) результатах кількісного визначення отруйних речовин в органах та тканинах.

При встановленні діагнозу отруєння тварин приймаються невідкладні заходи допомоги, застосовується антидотне лікування, проводяться профілактичні засоби щоб попередити масове отруєння тварин, проводиться ветеринарно-санітарна експертиза вимушено забитих тварин з метою визначення їх придатності або непридатності для харчових цілей.

При повторних отруєннях проводиться судово-ветеринарна експертиза, яка визначає причину отруєнь, що часто повторюються, для представлення висновків своєї роботи судово-слідчим органам.

### 3.2 Лабораторні тварини

Використання тварин для вивчення морфологічної будови організму і функцій органів та систем, причин та механізмів захворювань людей почалося ще в V віці нашої ери.

Для постановки різного роду експериментів використовувалися ссавці, домашні та сільськогосподарські тварини (собаки, коти, кролі, кози, вівці, телята, свині, коні), дикі тварини (маври, вовки, лиси, гризуни і т.д.), домашня птиця (курі, утки, гуси, індюки), земноводні (жаби), ракоподібні (дафнії), комахи (комарі). Без різнобічних експериментів на лабораторних тваринах, особливо на теплокровних, був би неможливим прогрес сучасної медицини та біологічних наук. В наш час використовується біля 250 видів тварин.

В лабораторних наукових дослідженнях використовуються тварини, що розводять і вирощують в спеціальних приміщеннях, які називаються **віварій**. На лабораторних тваринах моделюються захворювання, які зустрічаються у людей. В таких дослідженнях використовуються тільки практично здорові тварини, що пройшли ветеринарний огляд.

Завдяки зусиллям вчених виведено **інбредні лінії тварин** (тварини близького внутрішньородового схрещення) з притаманними людям спадковими хворобами (чутливість до пухлиноутворення, певних інфекційних захворювань, психічних розладів і т.д.). У тваринництві **лінією**

називається велика група гомозиготних тварин однієї породи, які походять від одного самця – родоначальника лінії. Лінійні тварини, подібно однояйцевим близнюкам, є практично генетично однорідними, мають однакові реакції на вплив фізіологічних, хімічних та патогенних факторів. Ця група тварин має ті самі характерні спадкові якості, що і її родоначальник. Вони схожі між собою зовні та за біологічними характеристиками (плодовитості, стійкості проти захворювань, чутливості до певних захворювань та ін). Існує біля 250 ліній мишей, біля 60 ліній щурів, біля 10 ліній мурчаків (морських свинок), кролів, собак, мініатюрних свиней.

Лінійні (інбредні) тварини одержують методом безперервного тісного інбредингу, тобто спарювання близьких за родинними зв'язками тварин, протягом не менше 20 поколінь і лише тоді досягається 100% гомозиготність (генетична однорідність). Такі тварини характеризуються низькою життєздатністю, уповільненим розвитком, низькою здатністю до розмноження, зниженою стійкістю до змін навколишнього середовища. Незначні коливання зовнішнього середовища, які залишаються непомітними для гетерозиготних тварин, можуть дуже впливати на гомозиготних (лінійних) тварин, внаслідок їх зниженої стійкості до всіляких змін. В експериментальних дослідженнях також використовуються нелінійні тварини, які розводити значно простіше і коштують набагато дешевше.

Як лінійні так і нелінійні тварини є носіями збудників багатьох вірусних та бактеріальних захворювань. У зв'язку з цим виникла необхідність одержання лабораторних тварин, які не мають мікрофлори або мають контрольовану мікрофлору. Сучасний рівень науки дозволяє вирощувати та утримувати в абсолютно стерильних умовах протягом всього життя тварин, які не мають мікрофлори. Це так-звані *гнотобіоти* (“стерильні” лабораторні тварини). Організм гнотобіотів або зовсім не має мікрофлори або має чітко контрольовану мікрофлору. Дослідження проведені на таких тваринах дозволили встановити роль системи харчування та дихальних шляхів в роботі захисних механізмів організму, що епітелій слизової оболонки є бар'єром для інфекційних захворювань. Такі тварини використовуються для вивчення аутоімунних процесів та виявлення ролі бактеріальних та клітинних антигенів в процесах аутоенсибілізації.

Стан здоров'я є одним з головних критеріїв якості лабораторних тварин, як об'єктів медико-біологічного експерименту. Це в значній мірі залежить від умов харчування, утримання та віку лабораторних тварин. Вік тварин поділяється на 4 періоди: молочний, статеве дозрівання, репродуктивний період та період старіння. Успіх наукового експерименту в великій мірі залежить від методичного рівня та стану здоров'я лабораторних тварин, які є об'єктом наукового дослідження. Підбір лабораторних тварин, тобто вид вибраних для наукового експерименту тварин, їх здоров'я, відсутність інфекційних захворювань, умови утримання – визначають фактичні результати експериментального дослідження.

До проведення експериментальних досліджень на тваринах допускаються особи, що мають вищу медичну, ветеринарну, фармацевтичну, біологічну освіту після того, як вони засвоїли правила поводження з лабораторними тваринами і набули практичних навиків роботи з ними.

При роботі з лабораторними тваринами необхідно звернути увагу на проведення процедур, що супроводжуються больовими подразниками. Такі процедури проводяться під місцевою або загальною анестезією. Забороняється повторне використання тварин, які вже брали участь у лабораторному дослідженні.

Тварини, у яких після проведення наукового експерименту знизився рівень життєздатності, підлягають евтаназії гуманними методами. Таких тварин усипляють і забивають методом дислокації шийних хребців або декапітації за допомогою гільйотини. Евтаназія не повинна проводитися в приміщенні, де знаходяться інші лабораторні тварини.

При проведенні довготривалих досліджень тварин готують до проведення експерименту – привчають до процедури, рук експериментатора та приміщення, де проводиться експеримент.

Для проведення дослідження підбираються дослідні тварини однорідні по статі, віку, масі. Перед дослідженням проводиться вибірковий контроль здоров'я. Для проведення такого контролю вибирається 5 тварин, у яких беруть кров для проведення максимальної кількості аналізів, що повинні показати стан здоров'я всієї групи.

Після цього тварин розподіляють на рівноцінні групи, розсаджують в окремі клітки, маркують. Маркування – це спосіб присвоєння тварині номера, який повинен зберегтися до кінця експерименту. Є різні способи маркування:

- нанесення татуювання на хвості мишам та щурам;
- нанесення за допомогою спеціальних барвників мітки на вуха, ніс, лапки, спину тварини – набір таких міток означає певний номер;
- за допомогою спеціального пістолета на вуха тварин закріплюють кліпси з позначеним номером.

Великих тварин розміщують в окремі клітки з номерами.

### **Контрольні запитання**

1. Що таке токсикологія?
2. Завдання ветеринарної токсикології.
3. Класифікації токсичних речовин за ступенем небезпечності.
4. Що вивчає токсикокінетика та токсикодинаміка?
5. В яких видах досліджень використовують лабораторних тварин?

## 4. ОСНОВИ ФАРМАКОЛОГІЇ

### 4.1 Історія фармакології

Лікознавство ще в глибоку давнину перебувало у тісному зв'язку з філософією, природознавством і загальною культурою людства. Первісними причинами розвитку фармакології були інстинкти самозбереження людини, які дозволили виробити вміння встановлювати зв'язок між випадково використаними речовинами і користю від них. Згодом люди почали аналізувати дію лікарських засобів і, нарешті, в наш час стали керувати діяльністю організму за допомогою лікарських засобів.

Найдавнішим джерелом вивчення лікарських речовин є *Аюрведа* - священна книга індусів. В Аюрведі проаналізовано понад 1000 лікарських рослин та засобів тваринного походження.

Видатні лікарі минулого, філософи узагальнювали народний досвід і створювали науку про лікарські рослини, їх застосування в медицині. Першим зробив спробу систематизувати розрізнені відомості про лікарські рослини видатний лікар і мислитель стародавньої Греції - *Гіппократ* (460-377 роки до н. е.). Гіппократ одержав загальне визнання і був названий "батьком медицини". Він прагнув звільнити медицину від баласту повір'їв. Взнявши за основу свій досвід і спостереження за станом хворого біля його ліжка, Гіппократ написав книгу про хвороби людей і способи приготування ліків. Послідовником Гіппократа став римський вчений *Клавдій Гален*. Його праці з фармації вважаються вершиною античної після гіппократової медицини. Гален удосконалив і розробив способи одержання лікарських препаратів з рослин, які дійшли до наших днів під назвою "галенові засоби".

У середні віки на розвиток лікознавства значно вплинула арабська культура, яка була відображена у багатотомних працях *Авіцени* (Абу Алі Ібн-Сіна, 980-1037), таджика за національністю. Авіцена одержав всебічну природничу і філософську освіту. Джерелом знань Авіцена вважав досвід, спостереження, порівняння. Він безкоштовно лікував хворих і досліджував на людях дію засобів народної медицини, ліків китайського та індійського походження, а також препаратів, одержаних хімічним шляхом. Авіцена запозичив позитивне з вчення Гіппократа і його послідовника Галена. Його праці були джерелом знань у країнах Заходу, являли собою енциклопедію про здоров'я, ліки і хвороби, а за кількістю видань успішно конкурували з Біблією (видавалися більше 40 разів, навіть у XVI столітті більше 20 разів). Праці Авіцени з фармакології, фармації є найбільш повним переказом усього попереднього досвіду медицини. Ним було описано 764 лікарські засоби.

Вчений запропонував класифікацію лікарських засобів, яка в своїх загальних рисах схожа на сучасну. Спочатку він розподілив ліки за хворобами, потім за дією. Складні ліки Авіцена включив у фармакопею, що стала попередником державних фармакопей країн Європи, які почали складати в XVII-XVIII ст.

У середні віки вчені-лікарі намагалися розширити асортимент лікарської сировини, способів її обробки та створення комбінованих лікарських засобів. Із стародавніх і середніх віків у наукову медицину прийшли, головним чином, лікарська сировина і рослини (опій, іпекакуана, хінна кора, камфора, блекота, рицинова олія, смоли), окиси металів, солі і попіл рослин.

Реформи Петра I в усіх сферах життя вивели медицину Росії на одне з перших місць у світі. Було заборонено торгівлю ліками на ринках. У 1755 році був відкритий Московський університет і при ньому організовано медичний факультет, де розпочалося викладання "лекарственного веществославия" - комплексного предмета, що включав фармацію, рецептуру, фармакологію, токсикологію, фармакотерапію та вчення про мінеральні води. Відкриття Петербурзької медико-хірургічної академії (1799), Віленського (1803), Казанського (1804) і Харківського (1805) університетів сприяло розвитку фармакології і фармації.

У першій чверті XIX століття розпочав наукову діяльність видатний вчений, фармаколог і фармацевт *А. М. Нелюбін* (1785-1858). Будучи енциклопедично освіченою людиною, він уявляв фармакологію як систему точних знань, що ґрунтується на вивченні хімічних і фізичних властивостей лікарських засобів, методів синтезу, приготування лікарських форм та дії ліків залежно від стану організму. У 1827 р. було видане "Керівництво з Фармакології", яке витримало п'ять видань. А. М. Нелюбін вперше застосував змішану фармакологічну класифікацію лікарських засобів, яка в основному використовується і зараз в усьому світі. Він був основоположником хіміко-фармацевтичного напрямку у фармакології, суть якого полягає у вивченні фармакологічної дії різних засобів залежно від їх хімічної будови, способу приготування ліків. Його праці започаткували розвиток фармакології як науки про фармакокінетику і фармакодинаміку лікарських засобів.

Становленню експериментальної фармакології сприяли успіхи фармацевтичної хімії, представники якої на початку XIX ст. розробили методи виділення індивідуальних речовин з лікарських рослин. У середині XIX століття були виділені з рослин і увійшли в медицину відомі зі стародавнього періоду її розвитку алкалоїди: морфін (1806); аметин (1817), кофеїн (1819), хінін (1820), атропін (1833). Виділені алкалоїди мали таку ж лікувальну дію, як і відповідні рослини, тому у фармацевтів і лікарів сформувалися уявлення про діючу речовину, яка знаходиться в сировині. Це відкриття дозволило фармакологам вивчати механізм дії чистих речовин.

З 1890 до 1896 рр. кафедрою фармакології Військово-медичної академії керував великий російський вчений *І. П. Павлов* (1849-1936), який значно вплинув на розвиток фізіологічного мислення у фармакології нервової, серцево-судинної системи та системи травлення. Пізніше у фізіологічних лабораторіях академіка І. П. Павлова в 1910-1936 р.р. методом умовних рефлексів уперше було зроблено експериментальне обґрунтування дії на кору мозку бромідів, багатьох наркотичних і збуджуючих речовин, що поклало початок сучасній психофармакології.

І. П. Павлов так писав про значення фармакотерапії: "... потрібно визнати, що перший за універсальністю прийом лікування є введення лікарських речовин у людський організм. Адже який би випадок не був, навіть акушерський, хірургічний, майже ніколи не обходиться без того, щоб разом зі спеціальними прийомами не були введені в організм лікарські речовини".

До кінця XIX ст. фармакологія, на основі хімічного вивчення лікарських засобів і встановлення їх дії на тваринах, стала точною наукою і заклала науковий фундамент для фармакотерапії.

Основоположником патологічної фармакології є видатний вчений і педагог *М.П. Кравков*, який завідував кафедрою фармакології Військово-медичної академії після І.П. Павлова. У 1905 р. ним був виданий підручник "Основи фармакології" у двох частинах, який перевидавався 11 разів за життя і три рази після його смерті.

Учнем і послідовником М.П. Кравкова був проф. *М.П. Ніколаєв*. Продовжуючи розробку ідей свого вчителя, М.П. Ніколаєв теоретично обґрунтував і експериментально розробив патологічну фармакологію, яка рекомендувала проводити вивчення лікарських препаратів на тваринах з викликаними у них патологічними станами, моделюючими хвороби у людини.

До середини XX ст. закінчилося формування фармакології як точної науки. У цей період у фармакологію міцно увійшло синтетичне мислення, з науки, що пояснює явища, фармакологія перетворилася на науку про регуляцію діяльності організму за допомогою лікарських засобів. Велика роль у розвитку радянської фармакології належить професорам О.М. Кудріну, Г.П. Першину, М.Д. Машковському, О.І. Черкесу, Я.Б. Максимовичу, Г.О. Батраку та ін.

Зараз в усьому світі використовується близько 6000 оригінальних лікарських препаратів. Близько 80% цього числа становлять препарати, одержані за останні 30-35 років. Для порівняння: у XII-XVIII ст. за 100 років було відкрито лише 5 лікарських засобів, а у кінці XIX ст. людство одержувало близько 2 препаратів кожен рік. Недарма період кількох останніх десятиліть XX ст. називали "фармакологічним вибухом", "лікарською революцією".

В останні 10-20 років фармакологічні дослідження спрямовані, в основному, на розробку лікарських засобів для лікування вірусних хвороб, раку, серцево-судинних захворювань, атеросклерозу, інфекційних захворювань (включаючи лікарські засоби для їх профілактики), лікарських засобів проти старіння, для лікування аутоімунних захворювань, ревматизму, порушень обміну речовин, СНІДу.

Зараз практично немає такого розділу фармакології, якого б не торкнулись досягнення прогресу: чи то у вигляді доповнення арсеналу більш сильних засобів напівсинтетичного чи синтетичного походження, чи то створення нових, раніше незаних ефективних ліків.



### 4.1.1 Фармакологія та її напрямки

Досягнення в медицині пов'язують з використанням лікарських речовин та отрут. Лікарські речовини по своїй структурі та біохімічному складу схожі на речовини живого організму (повна або часткова відсутність яких обумовлює причину хвороби) і при лікуванні замінюють їх в організмі.

Наука про ліки називається **фармакологією**. Фармакологія вивчає дію ліків на здорові і хворі організми, проводить цілеспрямований пошук нових лікарських засобів та їх раціональне використання. Вона з'ясовує вплив лікарських препаратів на функції біологічних систем організму, такі як: молекули, клітини, тканини, органи, системи органів і організм в цілому. Фармакологія знаходиться на межі багатьох наук: хімії, біохімії, біології, фармації, медицини, біофізики і є їх складовою частиною.

Фармакологія в практичному і організаційному відношеннях ділиться на кілька напрямків:

- *хіміко-фармацевтична фармакологія*. Її завданням є пошук нових лікарських засобів, початкове вивчення характеру і механізму їх дії на тваринах, складання початкових схем їх використання; фармакологічний контроль якості і безпеки використання лікарських засобів;

- *медико-біологічна фармакологія* проводить вивчення механізму дії фармакологічних препаратів, раціонального їх використання;

- *клінічна фармакологія* вивчає особливості впливу нових і вже існуючих в даний час лікарських препаратів на здорових і хворих людей з використанням різних методів дослідження, які можна застосувати до людей. Вона уточнює схеми використання лікарських засобів, їх дозування та інші обставини, що забезпечують максимальну лікувальну ефективність препарату при мінімумі негативного впливу на людину;

- *фармакотерапія*. Наука про лікування за допомогою лікарських засобів. Одним з найважливіших її принципів є індивідуальний підбір препаратів, їх доз і схем використання. При складанні індивідуального плану лікування лікар враховує стадію і тяжкість захворювання, вік хворого, особливості його організму, переносимість ліків й інші фактори життя і праці, які впливають на дію лікарських засобів.

- *ветеринарна фармакологія* вивчає механізми дії лікарських засобів на сільськогосподарських тваринах. Її завданням є розробка теоретичних основ вживання цих засобів здоровими і хворими тваринами. Дані, одержані у процесі досліджень, дуже цінні для експериментальної фармакології.

- *фітофармакологія* - це галузь фармакології, яка вивчає механізми дії хімічних засобів, що використовуються для профілактики і лікування хвороб у рослин;

- *біохімічна фармакологія* вивчає зміни біохімічних процесів в організмі під впливом ліків та роль таких змін у лікувальному ефекті;

- *біофізична фармакологія* вивчає зміни біофізичних процесів та їх роль у механізмі дії лікарських засобів;

- *клітинна фармакологія* вивчає реакцію клітини на лікарські засоби;
- *молекулярна фармакологія* виявляє зміни біомолекул у живих клітинах під дією лікарських препаратів.

## 4.2 Основні поняття в фармакології

*Ліки, лікарський засіб, лікарський препарат* - фармакологічний засіб, дозволений Міністерством охорони здоров'я України до застосування з метою лікування, профілактики або діагностики захворювання.

*Лікарська речовина* - індивідуальна хімічна сполука або біологічна речовина, дозволена для дослідження.

*Фармакологічна речовина* - індивідуальна речовина в процесі дослідження, що має фармакологічні властивості.

*Фармакологічний препарат* - фармакологічна речовина в лікарській формі, яка досліджується.

Ліки, введені в організм, взаємодіють з рецепторами клітини, внаслідок чого підсилюють (збуджують) або пригнічують (гальмують) функції клітин. Посилення або пригнічення біофізичних, біохімічних та фізіологічних процесів у клітинах організму під дією ліків називається *фармакологічною реакцією*.

*Фармакологічний ефект* - результат послідовних змін у функціях органів та систем організму під дією лікарського засобу.

### 4.2.1 Види дії ліків

#### ***Виділяють кілька видів дії ліків:***

1. Під *місцевою (пререзорбтивною) дією* розуміють сукупність явищ, які розвиваються на місці застосування ліків. Місцева дія виявляється, коли ліки наносяться на тканину людини: шкіру, слизові поверхні. Але слід пам'ятати, що місцеву дію не можна розглядати окремо від реакції всього організму. Місцева дія характеризується в'язучим, подразнюючим, припікаючим, місцевоанестезуючим ефектом речовин. Для місцевої дії застосовують мазі, гелі, розчини, присипки, порошки, пасти, лініменти, пластирі.

2. *Резорбтивна дія* виникає, коли ліки всмоктуються в кров. При резорбтивній дії процеси відбуваються в органах і тканинах, з якими ліки безпосередньо взаємодіють.

3. *Пряма дія* - коли ефект зумовлений безпосереднім впливом речовини на орган-мішень. Процеси, що виникають *вторинно* в інших тканинах і органах і є результатом непрямой дії ліків. Пряма дія завжди *первинна*, непрямая - завжди *вторинна*.

4. Проявом прямої дії ліків є *вибіркова (селективна) дія* - це вплив ліків на обмежену групу клітин, орган. Вибірковість прямої дії пояснюється тим, що тканини і клітини організму відрізняються одне від одного не тільки

морфологічною структурою, але і характером біохімічних процесів. Вибіркова дія - це наслідок втручання ліків в біохімічні процеси. Вибірковість дії найбільш чітко виявляється при введенні в організм порівняно малих доз ліків. На цій підставі термін "*вибіркова дія*" інколи замінюється терміном "*переважна дія*". Важливо, щоб препарати володіли вибірковою дією. Добре виражена вибіркова дія у хіміотерапевтичних препаратів. Прикладом вибіркової дії є дія серцевих глікозидів на серцевий м'яз, адреналіну та атропіну на еферентні нерви, алкалоїдів ріжків на м'язи матки.

5. Розрізняють ще *головну* і *побічну* дії ліків. Головна - це бажана дія, її називають ще позитивною дією. Побічна (негативна дія), як правило, не потрібна для досягнення мети терапії і перешкоджає головній дії.

6. *Зворотна* та *незворотна* дії. Якщо зміни в організмі, що виникли внаслідок дії ліків, протягом певного часу проходять безслідно, то ліки мають *зворотну* дію. У протилежному випадку має місце *незворотна* дія. Одні й ті ж ліки можуть викликати зворотну і незворотну дію в залежності від дози. Такими, наприклад, є припікаючі та в'яжучі речовини, кислоти, солі важких металів, сполуки фенолу. Незворотна дія настає від неправильного застосування ліків: перевищення доз, тривалого вживання, при індивідуальній несумісності ліків і організму.

7. *Рефлекторна* дія: непряма дія ліків, у механізмі дії яких беруть участь рефлекси. У рефлекторній дії особливу роль відіграють рефлексогенні зони, які містять багато чутливих нервових закінчень. Такі зони знаходяться в слизовій ШКТ, верхніх дихальних шляхах, на поверхні шкіри, в судинній системі. Рефлекторна дія здійснюється на відстані і є наслідком збудження закінчень аферентних нервів. Прикладом рефлекторного виду дії є вплив нашатирного спирту на дихання. Гірчичники, банки, скипидар, крім місцевої, мають ще й рефлекторну дію.

Місцева, резорбтивна і рефлекторна дії ліків – умовні поняття, вони взаємозв'язані в цілому організмі.

8. Дія ліків ще поділяється на *фармакотерапевтичну* і *негативну*. Перша визначає, на яку ланку захворювання (причину, патогенез, симптоми) діють ліки, друга використовується для характеристики безпечного застосування препаратів.

Сучасна фармакотерапія використовує ліки з етіотропною, патогенетичною, симптоматичною і стимулюючою діями.

9. Розвиток будь-якого захворювання – це ланцюг причинно-наслідкових відношень. *Етіотропна* (причинна, каузальна) фармакотерапія стала можливою після того, як було з'ясовано причини багатьох захворювань. З метою етіотропної терапії застосовують хіміотерапевтичні, протигельмінтні, вітамінні препарати, антидоти та інші. Етіотропна фармакотерапія є радикальною, але не завжди при її застосуванні настає повне одужання.

10. Усуваючи причину (ліками етіотропної дії), ми не завжди можемо ліквідувати наслідок, тобто функціональні і структурні порушення в організмі, що вже виникли. Тому необхідно призначати ліки з

*патогенетичним* видом дії, тобто такі, що усувають або знижують функціональні і структурні порушення, які виникають у процесі розвитку (патогенезу) захворювання. З метою патогенетичної терапії застосовують протизапальні, протигістамінні, седативні препарати, серцеві глікозиди.

11. "Найстарішим" видом фармакотерапії є *симптоматична*. Такий вид лікування є паліативним (лат. pallio - прикривати, згладжувати). За сучасних умов препарати симптоматичної дії застосовують у комплексній фармакотерапії після встановлення діагнозу, оскільки симптоми - це основний показник при встановленні діагнозу. Є симптоми, небезпечні для життя, які необхідно швидко усувати (сильний біль, різкий спазм, судоми, високий АТ, гіпертермія, важка депресія). Препарати симптоматичної дії: анальгетики, снодійні, жарознижуючі, проносні та ін.

12. *Стимулююча дія* фармакотерапії спрямована на підвищення захисних сил (*процесу саногенезу*) і стимуляцію компенсаторних механізмів організму. Це найменш роздроблений вид лікарської терапії. Стимулюючу дію мають вакцини, аналептики, загальнотонізуючі препарати.

У медичній практиці найчастіше використовують лікарські засоби, які спрямовані на усунення причин захворювання, пригнічення механізмів її розвитку, ліквідацію основних симптомів.

#### **4.2.2 Принципи дозування ліків**

*Дозою* називають кількість лікарського засобу, що надійшла в організм. Кількість введеної в організм лікарської речовини є одним з важливих чинників, що визначають швидкість, характер, силу і тривалість дії ліків. Разова терапевтична доза, як правило, міститься в 1 таблетці або капсулі. Вага таблетки або капсули складається з разової терапевтичної дози діючої речовини та *наповнювачів або допоміжних речовин*.

За призначенням всі допоміжні речовини можна розділити на групи:

- формоутворюючі;
- поверхнево-активні (емульгатори, солюбілізатори та ін.);
- стабілізатори (підтримки рН, антиоксиданти та ін.);
- консерванти (хімічні речовини, що діють бактерицидно);
- речовини, що пролонгують або змінюють місце дії лікарського засобу (уповільнюють вивільнення та всмоктування, кислотостійкі покриття та ін.);
- коригуючі (цукор, барвники, ефірні масла та ін.);
- речовини, що оптимізують технологічний процес (для таблеток - зв'язуючі, розрихлюючі та ін.).

Деякі таблетки мають посередині рисочку, яка означає, що таблетку можна поділити. Якщо рисочка відсутня – таблетка не може бути поділена через особливість її всмоктування. Можливо дана лікарська речовина повинна діяти не в роті, а в шлунку або в кишківнику. Можливо, таблетка повинна розчинятися в шлунку поступово, окремими прошарками.

Дози ліків, призначені для лікування, що не викликають патологічних відхилень у життєдіяльності організму, називають *лікувальними* або *терапевтичними*. Терапевтична доза ділиться на разову, добову, курсову. Разова та добова дози поділяються на порогову, середню, максимальну та вищу разову, вищу добову.

*Мінімальна терапевтична доза* (підтримуюча) викликає мінімальний терапевтичний ефект, вона у 2-3 рази менша, ніж середня терапевтична доза.

*Середня терапевтична доза* викликає помірний терапевтичний ефект. Така доза застосовується у медичній практиці найчастіше. Фармацевтична промисловість випускає середню терапевтичну дозу ліків, як правило, в одній одиниці лікарської форми (в ампулі, таблетці). Це зручно, оскільки забезпечує умови меншого передозування ліків.

*Максимальна терапевтична доза* викликає найбільший ефект лімітованої терапевтичної дії. Для отруйних і сильнодіючих ліків Державним фармакологічним центром МОЗ України встановлюється максимальна терапевтична доза (разова і добова). Максимальною терапевтичною дозою користуються в тяжких випадках захворювання, при отруєннях, коли потрібно швидко підтримати життєві сили організму. В таких випадках можливе призначення *максимальної терапевтичної дози* або *ударної дози*. Наприклад, при отруєнні барбітуратами призначають максимальні дози аналептиків.

Крім лікувальних, існують *токсичні* дози, при застосуванні яких спостерігаються патологічні явища. Вивченням токсичної дії лікарських засобів на організм займається токсикологія. Мінімальні дози, що викликають побічні явища, називаються *мінімальними токсичними дозами*. Мінімальна доза, яка викликає смерть, називається *мінімальною смертельною дозою* (летальною).

Цілком зрозуміло, що в лікувальній практиці можуть бути використані лише ті дози лікарських речовин, які лежать у діапазоні мінімальної терапевтичної і мінімальної токсичної доз. Цей діапазон називається *широтою терапевтичної дії лікарських речовин*. Чим більша терапевтична широта дії ЛЗ, тим більш безпечні ліки.

В анотаціях до препаратів вказується курсова, добова і разова дози.

Разова доза призначається на один прийом, добова - на добу, курсова - на декілька діб. Як правило, вищі добові дози в три рази перевищують разові. Наприклад, вища разова доза анальгіну для дорослого – 1,0, вища добова - 3,0.

Дозу виражають у грамах або частках грама. Для точнішого дозування кількість речовини розраховують на 1 кг маси тіла. Деякі лікарські засоби (антибіотики, гормони тощо) прийнято дозувати в *одиницях дії* (ОД).

Індивідуальний вибір дози (адекватної для певного хворого) залежить від тяжкості і характеру захворювання. Загальне правило зводиться до того, що при захворюваннях легкого або помірного ступеню спочатку вводять порогову дозу, потім її підвищують до одержання бажаного лікувального ефекту. Такий підбір доз особливо необхідний для отруйних і сильнодіючих

лікарських засобів. При гострих захворюваннях вводиться максимальна або ударна доза.

Дитяча доза лікарського засобу (А) розраховується за формулою:

$$A = B \frac{a}{a + 12} \quad \text{або} \quad A = \frac{B}{70} \times B,$$

де В – доза дорослої людини, а – вік дитини, В – вага дитини.

Тактика дозування хіміотерапевтичних препаратів при інфекційних захворюваннях відрізняється від вибору доз для інших препаратів. Цю групу ліків вводять у максимальних дозах. Починають з *ударної дози* (максимальна терапевтична доза) з метою утворення високої концентрації ліків у крові і тканинах для отримання швидкого лікувального ефекту. Потім встановлюють режим введення ліків *підтримуючою дозою* (це мінімальна або середня терапевтична доза).

Слід пам'ятати, що найважливіша якість ліків – не "сила" їх дії, а ефективність безпечної дози. Вирішальне значення для інтенсивного фармакологічного ефекту має не абсолютна величина прийнятої дози лікарської речовини, а її *концентрація в крові*. Причина багатьох терапевтичних уражень полягає у складності передбачення індивідуальної різниці між дозою ліків і концентрацією, якої вони досягають у крові.

#### 4.2.3 Шляхи введення ліків

Лікарські засоби можуть вводитися одноразово, якщо за час їх перебування в організмі ліквідується причина болю. Наприклад: анальгетичні, судинорозширювальні ЛЗ або анестетики.

Лікування більшості захворювань потребує багаторазового введення - протягом кількох днів (антибіотики), кількох тижнів та місяців (при лікуванні хронічних захворювань таких як епілепсія, туберкульоз).

Всі шляхи застосування ліків можна умовно розподілити на ті, що застосовуються з метою *місцевої* та *резорбтивної* дії.

Мета *місцевого застосування* ліків – це тривале перебування молекул лікарського засобу в місці нанесення. Такі лікарські засоби застосовуються при хворобливих процесах на шкірі, слизовій оболонці очей, носа, шлунково-кишкового тракту, сечового міхура, черевини. До ШКТ тракту, сечового міхура, черевини такі лікарські засоби можуть бути введені за допомогою катетера або специфічного обладнання (наприклад, нанесення ЛЗ при лікуванні виразки шлунку). На шкіру, з цією метою, ліки наносяться у вигляді мазі, гелю, пластирів, розтирок, примочок, компресів. Добре всмоктуються речовини, що розчиняються в жирах (анестетики, фенол, гірчичне масло). Через пошкоджену поверхню ліки значно краще всмоктуються, ніж через непошкоджену. Через шкіру можна вводити ліки також за допомогою постійного струму (іонофорезу). Деякі речовини мають високу ліпофільність,

можуть частково проникати крізь шкіру та надходити у кров. Непошкоджений епідерміс шкіри є майже непрохідним бар'єром для речовин, розчинних тільки у воді.

У медичній практиці застосовують також пряму місцеву дію на внутрішні органи. Для цього вводять ліки внутрішньоплеврально, внутрішньосуглобно, у спинномозковий канал, в артерію органу, в матку, міокард, у порожнину гнійника, якщо навколо утворилась капсула.

Шляхи введення ліків з метою *резорбтивної дії* діляться на ентеральний і парентеральний.

*Ентеральний шлях* - введення ліків через шлунково-кишковий тракт (entegon - кишка) включає приймання їх *sub lingua, per os, per rectum*. Ці способи розташовані відповідно до швидкості дії ліків в організмі.

Найшвидше діють лікарські засоби, що всмоктуються в ротовій порожнині, при введенні їх під язик. Введення лікарського засобу з під'язичної області називається *сублінгвальним* (sub lingua), з защічної області – *суббукальним*. Введені таким чином ліки обминають печінковий бар'єр, не вступають у контакт з соляною кислотою шлунку і ферментами травного каналу. Проте такий спосіб введення ліків може бути застосований лише для сильнодіючих речовин, а також для препаратів, які руйнуються під дією ферментів ШКТ.

*Перевагами* введення ліків *перорально* (per os) є те, що це найбільш зручний спосіб введення, рідше виникає негативний ефект (оскільки існує "біологічна фільтрація"), непотрібна апаратура, участь медичного персоналу і інструментів, можна вводити рідкі і тверді лікарські форми, та цей спосіб введення ліків має і недоліки, що обмежують його застосування. Основним *недоліком* є те, що багато речовин у ШКТ руйнуються, взаємодіють з їжею. Цей спосіб непридатний для надання швидкої допомоги (дія ліків настає повільно). Швидкість всмоктування ліків значною мірою залежить від ступеня наповнення шлунка і якості їжі. Ліки, в основному, всмоктуються в тонкому кишечнику. Найбільш сприятливими для вживання ліків всередину є час за 30-40 хвилин до їжі, або через 3-4 години після їжі. При патологічних станах ШКТ змінюється швидкість і повнота всмоктування ліків. Усі ліки, що всмоктуються у ШКТ, потрапляють у печінку, де зазнають хімічних перетворень та інактивації. Але досить часто ліки негативно діють на печінку. Оральний шлях непридатний для утворення в крові точної концентрації ліків. Ліки, що транспортуються зі шлунка й кишок, потрапляють через воротну вену у печінку, де починається їх інактивація ферментами - *ефект первинного проходження*. Дози деяких препаратів при застосуванні їх усередину мають бути значно більшими, ніж при введенні парентерально.

Крізь пряму кишку (per rectum - ректально) вводять ліки тоді, коли неможливо ввести їх *per os*: при непритомному стані хворого, при блюванні, захворюваннях шлунка, психічним хворим. Ректальний спосіб введення ліків залишається одним із раціональних у педіатричній практиці. За швидкістю дії цей спосіб прирівнюється до внутрішньом'язового, дія настає через 5-15 хвилин. При цьому ліки не руйнуються в печінці, оскільки з прямої кишки

надходять у кров не через воротну вену, а системою нижньої порожнистої вени, минаючи печінку. При цьому ліки проходять надійну біологічну фільтрацію, виключається їх негативна дія на печінку. Доза ліків при ректальному введенні більш точна і може бути зменшена на 1/3 у порівнянні з оральним способом введення. *Недоліками* способу введення ліків через пряму кишку є незручність приймання лікарської форми (свічки, клізми 40-45 мл), а також те, що всмоктуються лише ті речовини, що розчиняються у воді і жирах; жири, білки і вуглеводи самі не всмоктуються і не розпадаються на менші молекули.

*Парентеральний шлях* - введення ліків поза шлунково-кишковим трактом. Парентеральний спосіб введення, поширений у сучасній медицині, має *перевагу* перед ентеральним: більш швидке та повне надходження ліків у кров (точне дозування). Можливе введення ліків хворому у непритомному стані, ліки не руйнуються в печінці і ШКТ. Внутрішньовенно можна вводити ліки, які при підшкірному і внутрішньом'язовому введенні викликають подразнюючу дію (кальцію хлорид, строфантин, сульфаніламід). *Недоліки* парентерального способу введення ліків: необхідна сувора асептика, участь медичного персоналу, наявність інструментарію (шприців), неможливість введення у вену олійних розчинів та суспензій, ліків, які викликають гемоліз, тромбоз, перехід гемоглобіну в метгемоглобін. Введення лікарських засобів цим способом часто супроводжується відчуттям болю. Внутрішньовенно вводять тільки стерильні розчини лікарських речовин.

*Внутрішньошкірний спосіб* введення ліків застосовують рідко, зокрема, для проведення діагностичної проби на наявність алергії до ліків, при вакцинації.

*Підшкірно* вводять водні та олійні розчини ліків (камфора), суспензії (пролонговані форми інсуліну). У підшкірній клітковині утворюється депо препарату. Лікувальна дія при цьому способі введення розпочинається швидше, ніж при пероральному, але повільніше (через 10-30 хвилин), ніж при внутрішньом'язовому введенні. Депо-препарати підшивають під шкіру, і вони діють протягом декількох місяців або декількох років (пролонговані форми дисульфіраму для лікування алкоголізму). При шоккових, колаптоїдних станах всмоктування ліків з підшкірної клітковини різко сповільнюється.

*Внутрішньом'язовий спосіб* введення ліків забезпечує надходження речовини у загальне коло кровообігу через 10-15 хв. Коли в м'яз вводять олійний розчин або суспензію, треба завжди перевірити, чи не потрапила голка в судину. Об'єм однієї внутрішньом'язової ін'єкції не повинен перевищувати 10 мл. Не вводять під шкіру і в м'яз речовини, що можуть викликати некроз тканин (кальцію хлорид) або мають значну подразнюючу дію.

При *інгаляційному* способі введення ліки впливають, в основному, на бронхи (ізадрин при бронхоспазмі). Інгаляційно вводять ліки, які добре всмоктуються через слизову альвеол і проявляють системну дію (наприклад, засоби для інгаляційного наркозу). Швидкість транспорту ліків при цьому способі введення залежить від об'єму дихання, площі активної поверхні



альвеол, проникності їх стінки, розчинності речовин у ліпідах, інтенсивності течії крові.

Швидкість дії ліків при парентеральних способах введення збільшується в такому порядку: *внутрішньошкірний, підшкірний, внутрішньом'язовий, інгаляційний, внутрішньовенний, внутрішньоартеріальний*

Лікарські речовини, які погано проникають крізь гематоенцефалічний бар'єр, вводять під оболонки мозку - *субарахноїдально, субдурально, субоципітально* (антибіотики у випадках інфекційного ураження тканин головного мозку).

Для уникнення або зменшення негативної дії ліків лікарю і провізору слід завжди пам'ятати, що правильний вибір дози, способу введення ліків, одночасне застосування препаратів етіотропної, патогенетичної і симптоматичної дії є важливою умовою фармакотерапії будь-якого захворювання.

### 4.3 Біодоступність лікарських засобів

Лікарські препарати вводяться в організм у вигляді розчинів, таблеток, капсул, супозиторіїв і т.д. У всіх випадках (крім внутрішньовенного введення, коли ЛЗ вводиться у вигляді істиного розчину) лікарський засіб, перш за все, повинен вивільнитися з лікарської форми, тобто розчинитися в слині, під дією шлункового соку, жовчі. Після розчинення, коли ЛЗ став придатним для всмоктування, йому потрібно подолати ряд мембран, перед тим як потрапити в капілярне русло, а потім у системний кровотік. Це явище називається *ефектом першого проходження лікарського засобу*. Біологічна дія лікарського засобу, в значній мірі, визначається особливістю його надходження в системний кровотік.

Час, що пройшов з моменту введення ЛЗ до моменту його появи в крові або сечі, називається *біодоступністю*.

При пероральному надходженні в організм проходить кілька стадій:

- стадія розпадання та всмоктування ЛЗ (в роті, в шлунку, в кишківнику) залежить від лікарської форми;
- фармацевтична стадія (фармакокінетика, фармакодинаміка) залежить від біодоступності ЛЗ. Характеризується концентрацією в крові та органі-мішені;
- терапевтична стадія – це включення ЛЗ та/або його метаболітів у метаболізм організму. Характеризується проявом фармакологічної дії ЛЗ;
- стадія виведення. Характеризується величиною загального та ниркового кліренсу.

#### 4.3.1 Транспорт через біологічні мембрани

Транспорт або всмоктування ЛЗ в шлунково-кишковому тракті, легенях або через шкіру забезпечується, в основному, 4-ма типами біологічних мембран (див. розділ 1). В основі абсорбції лежать процеси пасивної дифузії, полегшеної дифузії, активного транспорту, піноцитоз.

Найчастіше зустрічаються мембрани **першого типу**, які являють собою два мономолекулярних шари ліпідів, по обидва боки яких знаходиться шар молекул білку. Функціонують такі мембрани за типом *простой дифузії* чи *пасивного транспорту* і характеризуються такими ознаками:

а) молекули ліків переміщуються з області де висока концентрація в область з низькою концентрацією;

б) швидкість транспорту пропорційна градієнтові концентрації з обох боків мембрани;

в) транспорт досягає стану рівноваги, коли концентрація препарату з обох боків мембрани вирівнюється.

Шляхом пасивної дифузії проникають електроліти, слабкі органічні кислоти, спирт етиловий, ліпофільні речовини.

Мембрани **другого типу** (*полегшена дифузія*) містять речовини - специфічні носії, які забезпечують вибірковий транспорт окремих речовин. Носій з'єднується з молекулою лікарського засобу легким зворотним зв'язком і рухається між крайніми шарами мембрани. Перенесення речовин відбувається за градієнтом концентрації і не пов'язане з затратами енергії. Швидкість такої дифузії висока, енерговитрати мінімальні. Прикладом може бути транспорт у клітину пуринових і піримідинових основ та нуклеїнових кислот.

У мембранах **третього типу** всмоктування ліків протікає за типом *активної дифузії* зі споживанням енергії. Причому, транспорт може відбуватися проти градієнту концентрації. Забезпечується це наявністю специфічного носія. У процесі транспорту молекули лікарської речовини змінюють свою структуру, на що і витрачається енергії. Лікарська речовина надходить у середину клітини, а носій повертається до зовнішньої поверхні мембрани за новою частиною лікарської речовини. Такий механізм отримав назву біологічного насосу.

Мембрани **четвертого типу** характеризуються особливостями будови: у мембрані утворюються пори. Через такі мембрани вільно проходить вода і лікарські речовини-неелектроліти. Шляхом *піноцитозу* здійснюється транспорт у клітину, в основному, макромолекул (білків), а також жирних кислот, жиророзчинних вітамінів.

*Локалізація мембран.* У шлунково-кишковому тракті переважна частина мембран належить до першого типу. Широка сітка капілярів має властивості мембран першого типу, в яку вставлені ділянки пористих мембран четвертого типу. У каналцях нирок функціонують мембрани першого типу з ділянками другого і третього типу. Мембрани четвертого типу локалізуються в клубочках нирок.

На шляху всмоктування лікарські речовини долають **гістогематичні бар'єри, гематоенцефалічний та плацентарний**.

*Гематоенцефалічний бар'єр* – це біологічна мембрана, що відокремлює тканину мозку та спинномозкову рідину від крові. Здатність ліків проходити через гематоенцефалічний бар'єр залежить від їх розчинності в ліпідах: якщо речовина розчиняється в жирах, то вона швидко проникає в

мозок і спинномозкову рідину. У дітей молодшого віку через недорозвиненість гематоенцефалічного бар'єру ліки швидше, ніж у дорослих, проходять через нього. Це обумовлює високу чутливість дитячого організму до багатьох препаратів (снодійні, морфін, антигістамінні засоби, резерпін).

Маючи здатність проникати крізь *плацентарний бар'єр*, ліки потрапляють з крові матері у кров ембріона. Проникнення ґрунтується на тих самих механізмах, що визначають швидкість всмоктування речовин через інші біологічні мембрани. Речовини з молекулярною масою менше 500 швидко проходять крізь плацентарний бар'єр, для речовин з молекулярною масою більше 1000 плацента практично непроникна. Показником проникності плацентарного бар'єру служить час, необхідний для встановлення рівноваги між концентрацією лікарської речовини в крові матері та плоду.

Більшість ліків в організмі плоду не піддається хімічним перетворенням взагалі, тому після зниження їх концентрації (за рахунок метаболізму і екскреції в організмі плоду) вони можуть крізь плаценту надходити назад в організм жінки. При токсикозі вагітності, гіпоксії, кровотечі, ендокринних порушеннях проникність плаценти зростає. Через неї можуть проникати такі речовини, які в звичайних умовах не проникають через плаценту. Проникність ліків через плаценту є причиною токсичної (тератогенної) дії ліків.

Якщо препарат введено незадовго до пологів, то він може негативно впливати на стан плода під час пологів та після народження. Тому, призначаючи ліки вагітним, слід враховувати період часу, який залишився до завершення пологів.

#### **4.4 Розподіл ліків в організмі**

Процес розподілу лікарської речовини в організмі значною мірою визначається здатністю зв'язування його інгредієнтами крові по обидва боки мембрани. Універсальним способом є зв'язування на поверхні білкових молекул (головним чином, альбуміну), що реалізується за рахунок гідрофобної взаємодії і тому характеризується швидкою зворотною дією. Зв'язування білками крові обмежує поширення молекул лікарської речовини в організмі, оскільки лише вільна форма здатна дифундувати крізь біологічні мембрани. Це призводить до депонування препарату в крові.

Процес зв'язування істотно впливає на прояв специфічної активності ліків. Відомо, що великі молекули, до яких відносяться альбуміни, не здатні проникати крізь напівпроникні мембрани (наприклад, ендотелій капілярів).

Вміст препаратів у тканинах, як правило, обернено пропорційний величині зв'язування білками сироватки крові. Швидкість дифузії речовини пропорційна концентрації молекул вільного препарату, який стикається з мембраною. Крім альбуміну у зв'язуванні препаратів беруть участь  $\gamma$ -глобуліни, а також ліпопротеїни і гепарин. При цьому ліпопротеїни

адсорбують усі лікарські препарати, що мають властивості основ. Лікарські речовини конкурують між собою за зв'язування з білками плазми крові.

Як правило, розподіл ліків залежить від складу тканин. Головну роль у депонуванні ліків відіграють жири, білки, мукополісахариди. Ліки, добре розчинні в жирах, відкладаються в клітинах нервів (ефір). Йод депонується щитоподібною залозою. Вміст аміназину у 80 разів вище в мозку, ніж у крові і легенях. Антибіотики відкладаються в кістках і зубах. Багато речовин мають властивість вибірково накопичуватися в місцях специфічної дії: вітамін В<sub>12</sub> - у кістковій тканині, серцеві глікозиди - в серцевому м'язі, жіночі статеві гормони - в матці. Часто місце накопичення ліків і їх фармакологічна дія не збігаються. Це пояснюється тим, що дія ліків залежить не просто від накопичення в тканинах, а від їх взаємодії з рецепторами.

#### ***4.4.1 Фармакокінетика та фармакодинаміка лікарських засобів***

Комплекс змін (фармакологічних ефектів), які розвиваються в організмі під впливом ліків, називається *фармакодинамікою*. Фармакодинаміка – розділ фармакології, що вивчає розвиток біологічної та терапевтичної дії, сукупність ефектів та механізм дії лікарської речовини в часі. Фармакодинамічна взаємодія лікарських засобів здійснюється через медіаторні та гормональні рецептори клітин, а також за допомогою зміни діяльності клітин тканин, органів, функціональних систем.

*Фармакокінетика* - фармакокінетика (pharmakon - лікарський засіб і kinetikos - рух) вивчає транспорт, розподіл, перетворення (біотрансформацію) ліків в організмі та їх виведення (екскрецію, елімінацію) з організму.

Фармакокінетика ліків складається з кількох взаємопов'язаних етапів:

- вивільнення лікарської речовини з лікарської форми;
- проникнення лікарської речовини крізь біологічні мембрани в судинне русло та тканини до специфічних рецепторів;
- розподіл лікарської речовини в біологічних рідинах, органах та тканинах;
- біотрансформація (біохімічне перетворення) лікарської речовини, утворення метаболітів, які виводяться з організму;
- виведення лікарської речовини або її метаболітів з організму.

#### ***Фармакокінетичні параметри***

1. *Константа швидкості абсорбції* (всмоктування)  $K_{01}$  – швидкість надходження препарату з місця введення до системного кровообігу (при несудинному способі введення) за одиницю часу.

2. *Константа швидкості елімінації*  $K_{ел}$  або  $K_{ei}$  - швидкість зникнення препарату з організму шляхом екскреції чи біотрансформації за одиницю часу.

3. *Період напіввиведення* ( $T_{1/2}$ ; розмірність – год., хв) - час елімінації з організму половини введеної або всмоктоної дози препарату. Період

напівведення однозначно залежить від константи швидкості елімінації. Як правило,  $T_{1/2} = 0,693/K_{el}$ .

4. *Період напівабсорбції* (напіввсмоктування) ( $t_{1/2}$ ; розмірність год., хв.) – час, необхідний для абсорбції з місця введення в системний кровообіг половини введеної дози. Параметр використовується при несудинному введенні препарату і однозначно залежить від константи швидкості всмоктування препарату:  $t_{1/2,a} = 0,693/K_{01}$ .

5. *Стаціонарна концентрація препарату* ( $C_s$ , розмірність – ммоль/л, мкг/мл) – концентрація, яка встановлюється в плазмі крові при внутрішньовенному крапельному вливанні.

6. *Об'єм розподілу препарату* ( $V_d$  або  $V$ , розмірність - л, мл) – ступінь захвату препарату тканинами з плазми крові. Часто об'єм розподілу відносять до одиниці маси тіла хворого (g, кг) і одержують питомий об'єм розподілу ( $\Delta d$ ; л/кг; мл/кг;  $\Delta d = V_d/g$ ).

7. *Загальний кліренс* препарату ( $CL_t$  або  $CL_m$ ; розмірність – мл/хв, л/год) - швидкість очищення організму від ліків. Відповідає тій частині об'єму розподілу, яка очищається від препарату за одиницю часу:  $CL_t = V_d K_{el}$ .

8. *Біодоступність* (F) визначають кількістю лікарської речовини, що надходить до загального кола кровообігу і взаємодіє з тканинними рецепторами. Біодоступність виражають у відсотках і при введенні безпосередньо в кров приймають за 100%.

9. *Нирковий кліренс* ( $CL_{год}$  або  $CL_{нир}$ ; розмірність – мл/хв, л/год) - параметр, який визначає швидкість очищення організму від препарату шляхом його екскреції з сечею.

#### **4.4.2 Фактори, що впливають на фармакокінетику і фармакодинаміку лікарського засобу**

Усю багатогранність факторів, здатних впливати на фармакокінетику і фармакодинаміку ліків, можна розділити на дві групи.

1. *Екзогенні фактори*, не пов'язані з організмом хворого: хімічна будова ліків, фізичні властивості, лікарська форма і шляхи їх введення, доза, режим харчування, стан зовнішнього середовища (циркадний ритм, атмосферний тиск, температура повітря).

2. *Ендогенні фактори*, пов'язані з організмом хворого: маса тіла, стать, вік, фізіологічний (вагітність, гіподинамія, температура тіла) і патологічний (хронічні захворювання, алкоголізм, наркоманія) стани організму.

Існує багато даних щодо залежності фармакологічної активності від хімічної будови ліків. Ліки, близькі за будовою молекули, мають подібні фармакологічні властивості. Збільшення розмірів молекули пов'язують з блокадою фармакологічного ефекту. (Наприклад, одноатомні спирти мають наркотичну дію, а багатоатомні – ні.) Включення галогену в молекулу метану обумовлює наркотичну дію (хлороформ); закисні форми заліза більш активні, ніж окисні; окис вуглецю більш токсичний, ніж вуглекислота. Усунення будь-

якої функціональної групи з молекули лікарської речовини може значною мірою змінити її дію. Практичне значення залежності "структура-дія" полягає в тому, що знаючи цю залежність, можна синтезувати лікарську речовину з заданими фармакологічними властивостями.

Для взаємодії лікарської речовини з рецепторами клітин дуже важливою є просторова відповідність функціональних груп молекул речовини функціональним макромолекулам рецептора, тобто наявність *комплементарності*. Чим більша комплементарність, тим більшу спорідненість має лікарський засіб із відповідними рецепторами і тим більша його фармакологічна активність.

Для процесу всмоктування вирішальне значення має агрегатний стан ліків. Так, газоподібні ліки швидко всмоктуються через дихальні шляхи і швидко виявляють свою дію. Далі за швидкістю всмоктування ідуть рідини, потім тверді речовини. При цьому швидкість прояву ефекту і токсичності прямо залежить від факторів розчинності. Саме цей фактор, а також вид лікарської форми і шлях введення забезпечують *біодоступність* ліків. Правильне використання фактора розчинності при виборі лікарської форми і шляху її введення підвищує біодоступність ліків. Вивченням впливу лікарської форми на фармакодинаміку і фармакокінетику ліків займається *біофармація*. Вона вивчає всі види залежності фармакологічних активностей ліків від технологічних показників виготовлення їх лікарських форм.

Фармакологічна активність полярних і неполярних сполук різна. Полярні сполуки погано проникають крізь біологічні мембрани: шкіру або слизову оболонку, а з крові - погано або взагалі не надходять до тканин. Такі ліки мають меншу активність і токсичність при резорбтивній дії, ніж неполярні сполуки. Неполярні сполуки легко розчиняються в ліпідах і тому проходять крізь шкіру, слизову оболонку, гематоенцефалічний бар'єр.

Знання розчинності та фізико-хімічних властивостей лікарської речовини має велике значення для правильного вибору лікарської форми, шляху введення і дози препарату, а також дає змогу уникати деяких побічних ефектів.

Склад і кількість їжі впливає, насамперед, на кінетику надходження ліків у організм і особливо при прийманні їх крізь шлунково-кишковий тракт. Крім конкурентних відношень при всмоктуванні відіграють роль і можливі хімічні взаємодії. Тому рекомендаціям щодо приймання ліків, до чи після їжі, має приділятися велика увага. Необхідно враховувати також характер їжі, що споживається.

У клінічній практиці важливо врахувати вплив температурного чинника на фармакодинаміку ліків. Реакція організму на той чи інший лікарський препарат у період акліматизації може суттєво змінюватися.

На фоні гіпоксії організму лікарські речовини можуть діяти не властивим для них чином в умовах норми. При гіпербаричній гіпоксії ефект деяких лікарських речовин, як правило, суттєво підвищується. При гіпоксії підвищується токсичність серцевих глікозидів, симпатоміметичних амінів, барбітуратів.

Під впливом іонізуючого випромінювання змінюється фармакодинаміка і фармакокінетика лікарських речовин. Це зумовлено тим, що змінюються процеси обміну, функція імунної системи, тощо.

Залежністю фармакологічного ефекту від добової періодичності, а також хронофармакологічних особливостей лікарських речовин визначається і період максимальної активності (у людей – вдень, у нічних тварин – у темний період доби). Наркотичні, знеболювальні засоби ефективніші на початку другої половини дня, ніж вранці або вночі. Пік терапевтичної активності снодійних, серцевих глікозидів, навпаки, припадає на вечір. Прийом антигіпертензивних засобів краще призначати на 15-17 год, враховуючи можливе підвищення артеріального тиску о 18-20 год.

Віковий фактор є одним з провідних ендогенних факторів успіху лікування. Це пов'язано з тим, що в різні вікові періоди рівень функціонування біохімічних процесів, фізіологічних і морфологічних структур в організмі неоднаковий.

Особливу вікову групу являють собою діти: виведення лікарських речовин у новонароджених проходить значно повільніше, ніж у дорослих. Але протягом перших років життя процес цей різко перевищує останній у дорослих, потім уповільнюється, досягаючи стабільності у віці 20 років. У похилому віці розподіл ліків значно гальмується, що позначається на всіх кінетичних характеристиках. Як і у дитячому, в похилому віці це пов'язано з відсутністю або порушенням постійності внутрішнього середовища, недосконалістю бар'єрної функції і функції центральної нервової системи, недостатністю ферментативних процесів.

У статевій реакції на ліки особливої різниці не встановлено. Однак у жінок спостерігається занижена екскреція ліків, пов'язана з високим вмістом жирової тканини, що відіграє роль депо. Жінки більш вразливі до дії стрихніну, нікотину, менше - до дії алкоголю. Такі фізіологічні стани жінок, як вагітність, лактація і менструальний період підвищують чутливість до ліків. У період вагітності деякі лікарські речовини викликають снодійну реакцію, під час менструації підвищується чутливість до капіляроактивних речовин. При цьому необхідно постійно пам'ятати про можливість стимулюючої дії на матку і тератогенну дію ліків.

Зменшення або збільшення фізичного навантаження змінює об'єм циркулюючої крові, швидкість кровообігу, тиск, концентрацію білків у плазмі, нирковий кровообіг. Ці фактори суттєво впливають на кінетику лікарського засобу, прискорюючи чи уповільнюючи її.

Найбільша ефективність застосування ліків досягається при патологічних станах. Так, жарознижуючі, анальгезуючі, гормональні лікарські препарати серцеві глікозиди, речовини, що стимулюють та заспокоюють центральну нервову систему, діють при відповідних захворюваннях. Разом з тим, такий патологічний стан, як алкоголізм створює серйозну перепону для застосування ліків: токсичність барбітуратів зростає на 50% при одночасному вживанні алкоголю. Алкоголь змінює дію гіпотензивних, снодійних, заспокійливих, антигістамінних, антикоагулянтних (ЛЗ, що порушують

процеси згортання крові) лікарських препаратів. З алкоголем не можна поєднувати протисудомні ліки. Алкоголь порушує всмоктування інсуліну і вітамінів, провокує кровотечі при прийманні аспірину. В таблиці 10 приведені деякі ефекти, що спостерігаються при одночасному прийомі лікарських засобів з алкоголем.

Таблиця 10

#### Ефекти, що спостерігаються при одночасному прийманні алкоголю та ліків

Препарат	Ефект
Антидепресанти	Підсилення пригнічуючої дії на ЦНС
Антигістамінні препарати	Те ж саме
Анальгетики	Можливі шлунково-кишкові кровотечі, депресія
Антикоагулянти	Зниження виведення антикоагулянтів
Антибіотики (левоміцетин, гризеофульвін, метронідазол)	Ефект, аналогічний до дії тетураму
$\beta$ -адреноблокатори	Те ж саме
Гіпоглікемічні препарати (толбутамід, хлорпропамід)	Те ж саме + підсилення гіпоглікемічної дії
Нітрогліцерин	Артеріальна гіпотонія

#### 4.5 Біотрансформація лікарських засобів

Перші кроки у вивченні шляхів перетворення ліків в організмі зроблено ще в ХІХ ст., однак, основні шляхи біотрансформації ліків в організмі людини виявлені за останні 30 років.

*Біотрансформація* - процес перетворення ліків у метаболіти.

Умовно, метаболічні процеси розподіляються на дві фази (див. схему):

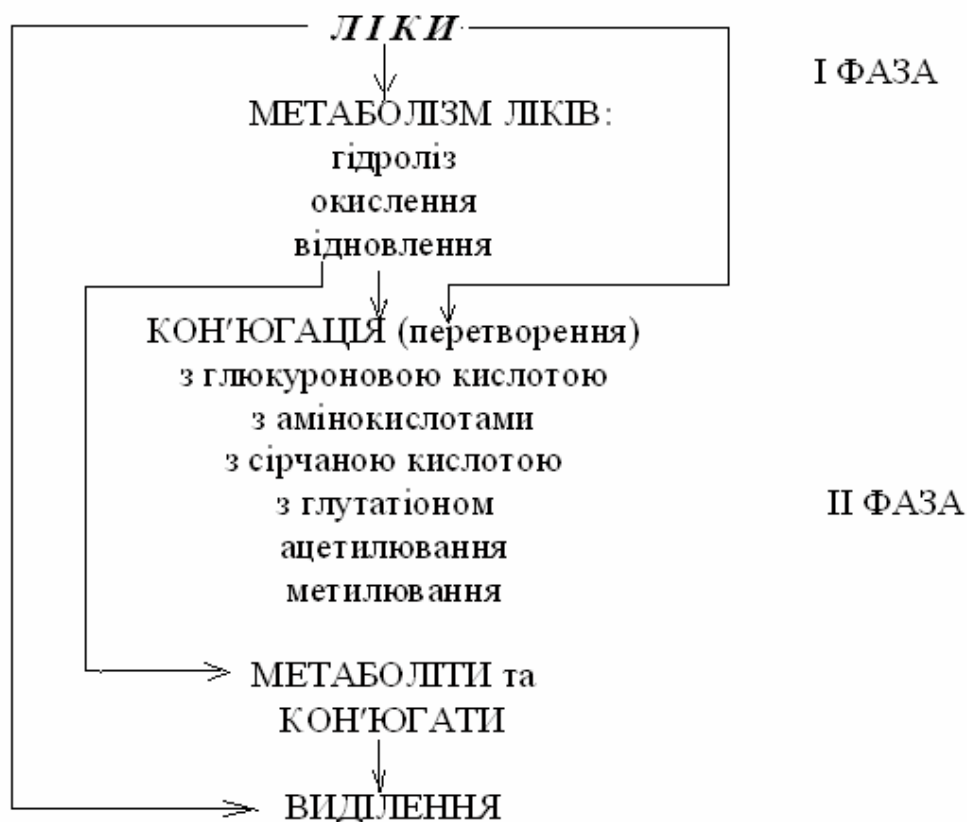
- у першій фазі внаслідок окиснення, відновлення, гідроксилювання, сульфоокислення, дезамінування, метилування проходить хімічна модифікація речовини з утворенням метаболітів. У цих процесах беруть участь мікросомальні ферменти (монооксигенази, пов'язані з цитохромами P450 та b<sub>5</sub>).

- у другій фазі проходить нейтралізація, дезактивація та детоксикація метаболітів за участю глутатіон S-трансферази (GST), УДФ-глюкуронозилтрансферази (UGT), НАД(Ф)Н-хіноноксидоредуктаза (NQO1), гемоксигеназа-1 та ін., які за допомогою кон'югації реактивних електрофільних і нуклеофільних груп з глутатіоном і глюкуроновою



кислотою роблять сполуки більш гідрофільними і сприяють їх активному виведенню з клітини.

### Шляхи біотрансформації лікарських речовин



Біотрансформація, як правило, призводить до зниження або зникнення фармакологічної активності (до інактивації ліків), крім випадків утворення *активних* або токсичних метаболітів. *Активні метаболіти* – це речовини, що утворюються в процесі метаболізму в організмі і викликають терапевтичну дію. Лікарські засоби, діючою речовиною яких є метаболіт, мають *продовжану дію*.

Токсичні метаболіти можуть викликати побічні або токсичні ефекти. Наприклад, при метаболізмі амідопірину утворюється канцерогенна речовина диметилнітрозамін, що є недоліком даного лікарського засобу.

Метаболізм ліків визначає час циркуляції препарату в організмі і, як наслідок, тривалість лікувального ефекту. Метаболіти, які утворюються в результаті перетворення ксенобіотиків, певним чином (переважно негативно) впливають на важливі процеси організму, навіть, на генетичному рівні. Вважається, що в основі механізму токсичної дії ксенобіотиків, їх впливу на організм та виникнення онкологічних захворювань лежать спільні процеси, пов'язані з дією високореактивних метаболітів.

#### 4.5.1 Метаболізм лікарських речовин

Більшість лікарських засобів в організмі проходять біотрансформацію. Одні - кілька відсотків від дози, інші - повністю перетворюються в один або багато метаболітів. Метаболіти можуть екскретуватися з організму або зазнавати подальших метаболічних перетворень.

Біотрансформація ксенобіотиків здійснюється за участю печінки, кишківника, легень, нирок, крові, плаценти. Основними місцями локалізації ферментів трансформації ксенобіотиків є печінка, нирки, шкіра та легені.

Функція *нирок* полягає в очищенні крові від продуктів життєдіяльності, в основному від малих водорозчинних молекул. Функціональною одиницею нирки є нефрон – невелика трубка, пов'язана із кровоносною системою, для утворення й виділення сечі. Нирка складається приблизно з мільйону нефронів, які спільно фільтрують близько 180 літрів плазми в день, утворюючи близько літру сечі. У нирках, в основному в проксимальних каналцях, спостерігається високий рівень експресії цитохрому P450 (20-30%). Таким чином, цей орган також бере участь у реакціях біотрансформації ксенобіотиків.

*Шкірний покрив* є важливим бар'єром, що захищає організм людини від впливу навколишнього середовища та токсичних речовин. Захисну функцію шкірного покриву, головним чином, виконує епідерміс. Епідерміс (зовнішні диференційовані (мертві) клітини, що містять нерозчинний білок кератин, оточений шаром гідрофобного ліпиду) забезпечує чудовий бар'єр від водорозчинних речовин.

*Легені* – орган, головною функцією якого є аерація крові. Для порівняння: печінка складається з 106 функціональних одиниць, нирки - з 106 нефронів, шкіра містить близько  $3 \cdot 10^6$  потових залоз, а легені містять  $300 \cdot 10^6$  альвеол, загальна поверхня яких становить  $70 \text{ м}^2$  (площа поверхні шкіри -  $1 \text{ м}^2$ ). У легенях також здійснюються реакції біотрансформації. Частка активності цитохромів P450, що припадає на тканини легенів, невелика, порівняно з печінкою (хоча це орган найбільш активний після нирок).

*Печінка* забезпечує три основні напрямки життєдіяльності організму:

- травлення;
- обмін речовин (енергозабезпечення, метаболізм білків, жирів, вуглеводів, гормонів, вітамінів, ферментів, води, електролітів, мікроелементів, пігментів) і детоксикацію;
- кровообіг.

Це найбільша залоза, яка складає приблизно 2% маси тіла дорослої людини і виконує безліч фізіологічних функцій: розщеплення вуглеводів і регуляція рівня глюкози в крові, запас вітаміну А, секреція альбуміну та широкого спектру інших екзокринних і ендокринних продуктів. Печінка одержує значну фракцію (25 %) серцевого викиду. 5 % від цієї кількості надходить прямо з артеріального русла, інші 20 % - з портальної вени. Венозна кров збагачена поживними речовинами, які всмоктуються із

травного тракту. Вони надходять у печінку для обробки, перш ніж надійдуть в основне коло кровообігу.

Майже всі ксенобіотики, в тому числі і лікарські речовини, що потрапляють у печінку, окиснюються певною ізоформою цитохрому P450. Найбільшу концентрацію цитохрому P450 має ендоплазматичний ретикулум гепатоцитів (мікросоми), де розташована основна система метаболізму ксенобіотиків (Рис. 1), до якої відносяться монооксигенази зі змішаною функцією, цитохром С-редуктаза, цитохром P450 та цитохром b<sub>5</sub>.

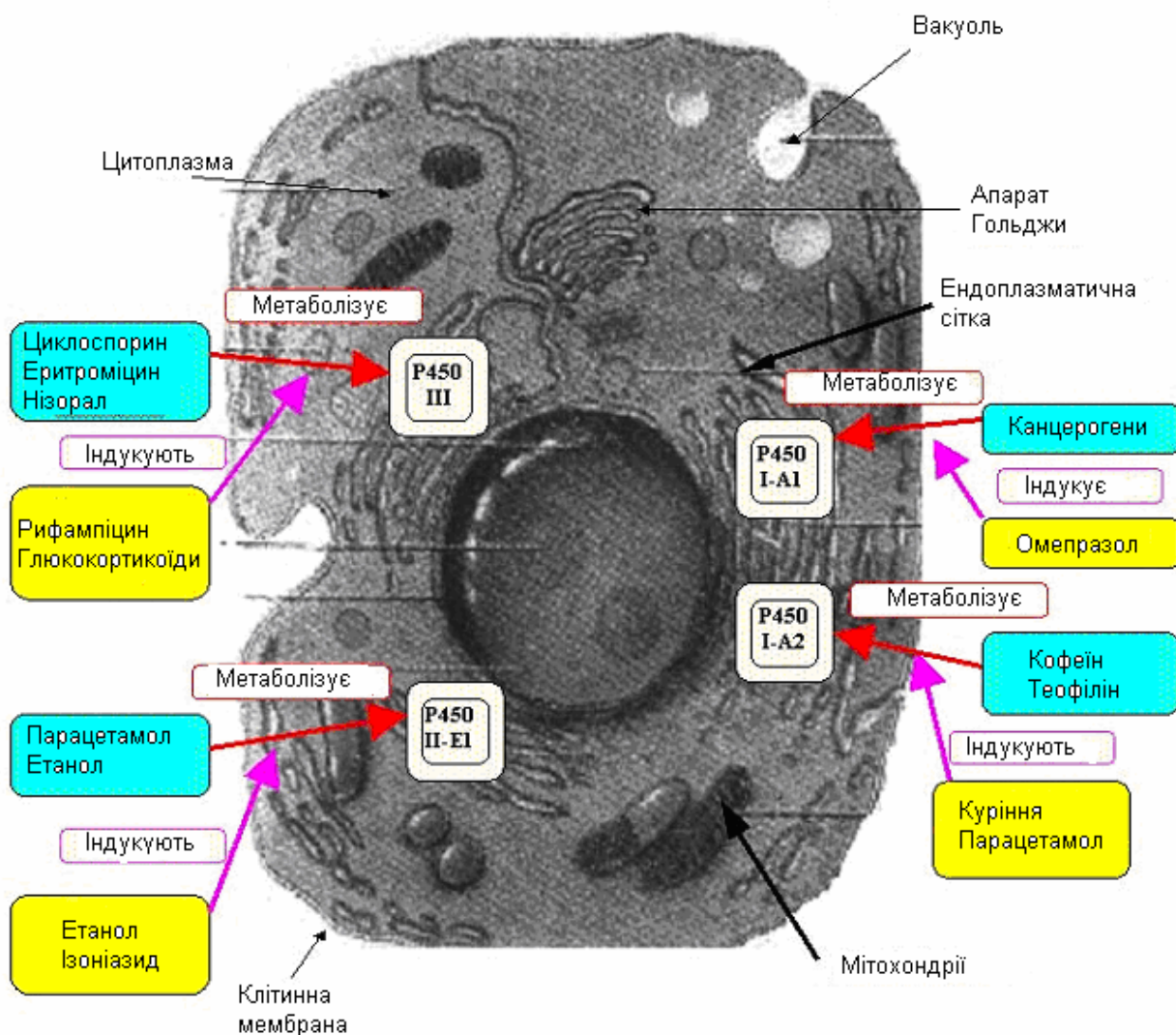


Рис. 1. Схема метаболізму ліків у гепатоциті.

Система цитохромів P450 знаходиться в ендоплазматичній мережі гепатоцитів і забезпечує метаболізм лікарських препаратів, утворюючи при цьому токсичні метаболіти. Механізм індукції ферментів організму дуже складне явище. Індуктори *підсилюють синтез* ферментів або *уповільнюють процеси розпаду*, стабілізуючи молекулу ферменту. Одним з вірогідних механізмів індукції може бути безпосередній вплив молекули-індуктора на регуляторну ділянку гену, що призводить до підвищення активності ферменту, який метаболізує ксенобіотик. Індукція метаболічних ферментів -

зворотний процес. Через деякий час, після припинення доступу індукторів в організм, активність ферментів знижується, досягаючи вихідного рівня.

Цитохром Р-450 має широку субстратну специфічність. Його субстратами можуть бути етиловий спирт, ацетон, піразинамід та інші речовини. Деякі речовини здатні підвищувати активність цитохрому Р450 за рахунок стимуляції або індукції синтезу молекул ізоферменту. Збільшення вмісту ізоферментів цитохрому Р450 в результаті індукції призводить до підвищення концентрації токсичних метаболітів. Кожний ізофермент може метаболізувати кілька речовин. Його молекула має особливу ділянку (активний центр) для зв'язування субстрату, яким може бути молекула лікарської речовини або інший ксенобіотик, що потрапляє в організм людини.

Етанол, наприклад, є індуктором ізоформи цитохрому Р-450 2E1 при хронічному введенні. При одноразовому введенні великих доз етанол може гальмувати реакції, що каталізуються цитохромом Р-450. Індукторами цитохрому Р-450 можуть бути: фенобарбітал, карбамазепін, дифенгіранін, хлоропірамін, пероральні протидіабетичні засоби, стероїдні гормональні препарати та ін.

Ідентифіковано біля 1000 ізоферментів системи Р450. Вони утворюють три родини: Р450-I, Р450-II, Р450-III. Ізоферменти цитохрому Р450, що мають 40%-ну ідентичність амінокислотного складу об'єднані в 36 сімей, 12 з них виявлено у ссавців (Рис. 2).

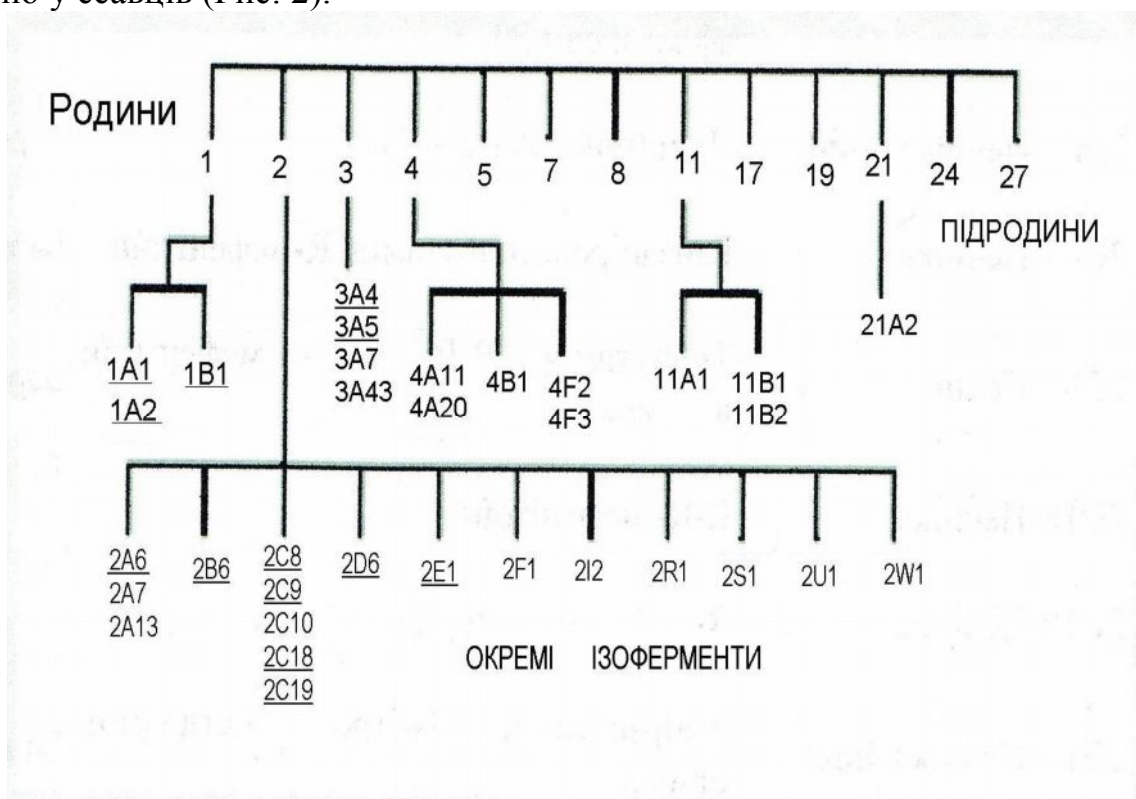


Рис. 2. Родина та підродина цитохрому Р450; підкреслені ізоферменти, які приймають участь у біотрансформації лікарських препаратів.

Лікарські засоби можуть бути індукторами або інгібіторами активності цитохрому Р450 (табл. 11).

## Деякі індуктори та інгібітори ізоформ цитохрому P450 людини

Цитохром	Субстрат	Інгібітор	Індуктор
CYP 1A2	Амітриптилін, кофеїн, кломіпрамін, мексилетин, естрадиол, парацетамол, теофілін, R -варфарин	Циметидин, флувоксамін, фторхінолонові антибіотики (ципрофлоксацин, норфлоксацин), грейпфрутовий сік	Омепразол, фенобарбітал, фенітоїн, поліциклічні ароматичні гідрокарбонати, куріння
CYP2C9	Диклофенак, індометацин, напроксен, фенітоїн, піроксикам	Хлорамфенікол, циметидин, флуконазол, ізоніазид, омепразол, сульфінпіразон	Рифампіцин
CYP2C19	Клозапін, діазепам, омепразол, фенітоїн, пропранолол	Флуоксетин, флувоксамін, ізоніазид, омепразол, сертралін	Рифампіцин
CYP2 D6	Амітриптилін, кодеїн, дезипрамін, галоперідол, метадон, метопролол, пропранолол, тіоридазин, тимолол	Аміодарон, циметидин, галоперідол, мибефрадил, хінідин, пропафенон, всі інгібітори зворотного захвату серотоніну	
CYP2 E1	Кофеїн, етанол, парацетамол, теофілін	Циметидин, дисульфірам	Етанол, ізоніазид
CYP3 A4	Амітриптилін, аторвастатин, бупренорфін, карбамазепін, кларитроміцин, кокаїн, кортизол, циклофосфамід, циклоспорин, дексаметазон, ділтиазем, діазепам, еритроміцин, кетоконазол, лоратадин, міконазол, симвастатин, теофілін, верапаміл, вінкристин,	Аміодарон, каннабіноїди, циметидин, кларитроміцин, клотримазол, діалтиазем, еритроміцин, грейпфрутовий сік, кетоконазол, метронідазол, міконазол	Карбамазепін, глюкокортикоїди, фенітоїн, рифампіцин, сульфадімідін

Враховуючи роль печінки в метаболізмі ксенобіотиків можна сказати, що не існує таких ліків, які б не викликали враження печінки. Ступінь таких

вражень залежить від дози ксенобіотика, тривалості його введення і, головне, від механізму впливу речовини та її метаболітів на структурні елементи і функцію печінки. Враження гепатоцитів, яке спостерігається при довготривалому введенні лікарських засобів, пояснюється утворенням активних метаболітів, що утворюються в печінці завдяки наявності ферментної системи мембран ендоплазматичного ретикулула гепатоцитів.

Анатомо-фізіологічні властивості та участь в інактивації ксенобіотиків робить печінку об'єктом негативного впливу лікарських засобів, особливо тих що вводяться через шлунково-кишковий тракт та тих, які потрапляють у кров. За умов поглиблення патологічного процесу адаптивні можливості гепатоцитів виснажуються і розвивається гепатит.

На етапах фармакокінетики кожного лікарського засобу важливу роль відіграє його концентрація в крові різних людей, різна швидкість всмоктування, транспорту через мембрани та виведення з організму. Така поліморфна система зумовлює значну варіабельність реакції на лікарські засоби у популяціях людей. Різниця в чутливості організму до лікарських засобів зумовлюється неоднаковою інтенсивністю їх метаболізму в кожного індивідуума у зв'язку з різною активністю ферментів, що беруть участь у цьому процесі. Активність ферментів може бути трьох видів: інтенсивна, слабка і середня, відповідно, метаболізм лікарських речовин може відбуватися швидко, повільно і нормально. Для кожної людини характерний свій метаболізм лікарських речовин, що відрізняється від метаболізму інших людей.

Більшість людей мають нормальні гени метаболізму, тобто належать за фенотипом до так званих активних метаболізаторів. Мутантні гени поширені рідко і зустрічаються серед окремих етнічних груп. Представники різних етнічних груп можуть відноситися як до повільних, так і до швидких метаболізаторів, залежно від синтезу в їх організмі відповідного ферменту з низькою (або відсутньою взагалі) та високою метаболізуючою активністю. У повільних метаболізаторів лікарський препарат, зазвичай, накопичується в організмі в значних концентраціях, що призводить до проявів побічного впливу та інтоксикації. Наслідком синтезу ферменту з високою метаболічною активністю є недостатній терапевтичний ефект при високих концентраціях лікарського засобу в крові.

Індивідуальні особливості залежать від генетичних факторів, віку пацієнта, його статі, стану здоров'я, характеру харчування. Слід додати ще індивідуальний вплив таких зовнішніх чинників, як куріння, наркоманія та алкоголізм. Такі відмінності активності метаболізму можуть мати важливе клінічне значення: дані, отримані на одній групі пацієнтів не можуть бути просто перенесені на іншу. В цілому, вважають, що концентрація препарату у літніх людей збільшується, а екскреція його довша, що вказує на необхідність зменшення дози лікарських сполук при терапії літніх людей. Встановлено, що навіть короткочасне голодування (1-3 дні) супроводжується змінами цитохром Р450-залежних монооксигеназ та кон'югуючих ферментів

у печінці, нирках і легенях, порушеннями звичайних співвідношень між ферментами першої та другої фази метаболізму ксенобіотиків.

Генетична варіабельність метаболізму лікарських засобів була встановлена випадково: стандартні дози ліків знезацька викликали нестандартні реакції в різних індивідуумів. Підраховано, що необхідна пацієнтові доза лікарського препарату може змінюватися в 20 разів, залежно від генотипу або рівня експресії ферменту. Якщо враховувати генотипові відмінності пацієнтів, то в результаті можна уникнути 10-20% смертей. Хоча залежних від статі відмінностей в ізоформах P450 для печінки людини не виявлено (на відміну від тварин), але фармакокінетика багатьох сполук є неоднаковою у чоловіків і жінок. У загальному випадку, якщо такі відмінності спостерігаються, жінки мають, як правило, вищу концентрацію лікарської сполуки в плазмі, ніж чоловіки.

Отже, здатність організму людини до утворення ізоферментів цитохрому P450 може бути причиною таких процесів:

1) надмірного терапевтичного ефекту внаслідок сповільненої метаболічної інактивації ліків в осіб зі зниженою активністю ферментів («повільних метаболізаторів»);

2) зменшення ефекту лікарських препаратів через прискорення інактивації в осіб з аномальною високою активністю ферментів («швидких метаболізаторів»);

3) збільшення токсичності ліків швидкими метаболізаторами за рахунок утворення більшої кількості токсичних метаболітів;

4) підвищення їхньої токсичності за рахунок накопичення токсичних метаболітів при повільній метаболізації;

5) утворення токсичних метаболітів у разі перерозподілу звичайних шляхів метаболізму ліків.

#### ***4.5.2 Екскреція лікарських засобів***

Основними органами екскреції (виведення) є кишечник і сечовий міхур. Нижні відділи шлунково-кишкового тракту можуть значно впливати на біотрансформацію й частку ксенобіотику в організмі. Критичним фактором тут виявляється стан кишкової мікрофлори. Мікрофлора нижніх відділів шлунково-кишкового тракту бере участь у реакціях біотрансформації, зворотніх до тих, які протікають у печінці й інших аеробних ділянках.

Поряд з цим, препарати можуть виводитись з організму разом з повітрям, що видихається, з секретом молочних, потових і слинних залоз (табл. 12).

На швидкість фільтрації лікарських засобів нирками, як і на об'єм розподілу ліків в організмі, значний вплив має процес зв'язування з білками плазми крові. Оскільки мембрани ниркових клубочків непроникні для білка, в клубочках фільтрується небілкова частина препарату.



Встановлено, що лужна реакція сечі підвищує виведення саліцилатів, і сульфаніламідів, кисла - хініну, фенаміну, кофеїну, папаверину.

У зв'язку з високою пористістю мембран клітин печінки багато ліків легко проникають у жовч шляхом простої дифузії і містяться в жовчі в концентрації, близькій до плазматичної. З жовчі речовини виділяються за допомогою активного транспорту.

Таблиця 12

### Основні шляхи виведення лікарських засобів з організму

Шляхи виведення	Лікарські засоби
З сечею	Більшість ЛЗ у незмінному стані
З жовчю	Дигітоксин, пеніциліни, тетрацикліни, стрептоміцин, стрихнін, четвертинні амонієві сполуки
Через кишківник	Доксициклін, іонізовані органічні кислоти
Через легені	Інгаляційні анестетики, йодиди, камфора, етанол, ефірні олії
З потом	Деякі сульфаніламід, тіамін
Зі слиною	Пеніциліни, сульфаніламід, саліцилати, тіамін, бензодіазепіни, етанол, йод, броміди, барбітурати, сульфаніламід.
З молоком	Антикоагулянти, антибіотики, тиреостатики, літій, карбамазепін

З фекаліями виділяються лікарські засоби, які не всмоктались у кишечнику. Деякі ліпофільні лікарські засоби після всмоктування у кишечнику частково секретуються з жовчю, утворюючи таким чином ентерогепатичний кругообіг (морфіну гідрохлорид, фенолфталеїн та ін.).

Легенями виводиться з організму бензин, скипидар, камфора, етанол, газоподібні речовини (циклопропан, карбоген). Деякі речовини, що мають місцево-подразнювальні властивості, проходячи крізь легені, можуть викликати їх запалення або набряк.

Ліки можуть також виділятися з секретом підшлункової залози, з плазми крові. Виведення летких рідин і газів з повітрям, що видихається, слиною, потом, статевими секретами складають порівняно невеликий відсоток від загального об'єму виведення ліків.



Лікарські засоби, що виводяться з молоком: тетрацикліни, стрептоміцин, левоміцетин, сульфаніламід, нітрофуран, морфін, барбітурати, скополамін, проносні засоби, фенотіазини, діазепам, алкалоїди, цитостатики, оральні коагулянти, оральні контрацептиви.

#### 4.6 Комбінована дія ліків

Лікарські засоби комбінують для ослаблення небажаних ефектів фармакотерапії (або щоб запобігти прояву цих ефектів), підвищення терапевтичного ефекту, скорочення терміну лікування.

Якщо два ЛЗ діють в одному напрямі, тобто їх взаємодія викликає підсилення фармакологічного ефекту, таке явище називається **синергізмом**. При *прямому синергізмі* переважно спостерігається сумарна дія, коли лікарські речовини діють на одні й ті самі рецептори (наприклад, норадреналін і адреналін). Коли кінцевий результат застосування двох лікарських речовин більший від суми ефектів кожної речовини окремо — це *потенціювання* або *підсилення*. Потенціювання властиве переважно для *непрямого синергізму*, якщо речовини мають різний механізм дії і впливають на різні рецептори.

Внаслідок взаємодії двох лікарських речовин ефект дії однієї з них може зменшитися або зовсім зникнути, таке явище називають **антагонізмом** (anti - протилежний і agon - боротьба). Розрізняють антагонізм фізичний, хімічний і функціональний:

- *фізичний антагонізм* спостерігається при адсорбції різних токсичних речовин сорбентами;
- *хімічний антагонізм* — коли між речовинами відбуваються хімічні реакції з утворенням неактивних сполук;
- *функціональний антагонізм* - коли лікарські речовини діють на одні й ті ж самі рецептори, але у протилежному напрямку.

Антагонізм широко використовують для усунення негативної дії ліків, а також при отруєннях.

#### 4.7 Механізм дії ліків

Шляхи досягнення фармакологічних ефектів лікарського засобу в організмі є *механізмом дії* лікарського засобу.

Для досягнення фармакологічного ефекту лікарська речовина повинна вступити у зв'язок з молекулами клітин організму. Зв'язок ліків з біологічним субстратом - лігандом може відбуватися за допомогою хімічної, фізичної, фізико-хімічної взаємодії.

Спеціальні структури, що забезпечують взаємодію між лікарською речовиною і клітинами організму, називаються рецепторами. При взаємодії лікарських сполук з рецептором виникають численні ефекти, що викликають біохімічні та фізіологічні зміни в органах і системах організму.

Типові механізми взаємодії ліків:

1. Лікарський препарат, маючи структурну подібність до метаболіту (медіатора), взаємодіє з рецептором, спричиняє його збудження (імітує дію медіатора). Такий препарат називається агоністом. Міцність зв'язування ліків з певними рецепторами обумовлена їх структурою і позначається терміном "афінітет".
2. Лікарські препарати, структурно подібні до метаболіту, але перешкоджають його зв'язуванню з рецептором, називаються антагоністами.
3. Лікарські препарати, які при взаємодії з рецепторами можуть поєднувати властивості і агоністів і антагоністів, називаються агоністами-антагоністами.
4. Лікарський засіб може мати модулюючий ефект, якщо при взаємодії з алостеричним центром рецептора він спричиняє конформаційні зміни в структурі рецептора, у тому числі в активному центрі, змінюючи його чутливість до метаболітів організму.
5. Ефект впливу лікарського засобу може реалізуватися за рахунок звільнення метаболітів від зв'язків з білком або іншими субстратами, активації чи інактивації ферментів.

Названі варіанти механізму дії ліків не вичерпують усіх можливостей взаємодії лікарського засобу з рецепторами.

Суттєвим є глибоке розуміння механізму взаємодії ліків, яку можна поділити на дві категорії:

- фармакодинамічна взаємодія, що визначається самим механізмом дії лікарського препарату,
- фармакокінетична взаємодія.

Фармакодинамічна взаємодія передбачає інгібування або індукцію одного лікарського препарату іншим.

Фармакокінетична взаємодія включає все різноманіття взаємодії організму з лікарським засобом. Сюди входять абсорбція, розподіл, метаболізм (у тому числі за участю системи цитохрому P450) і екскреція лікарських сполук.

Інгібування метаболізму лікарських засобів є найбільш частою причиною клінічно значимої медикаментозної взаємодії, що призводить до небажаного підвищення концентрації препарату в крові. Найчастіше це відбувається, коли два різні лікарські засоби конкурують між собою за можливість бути зв'язаними з одним ферментом. Ліки, які «програють» у цій конкурентній «боротьбі», втрачають можливість адекватно метаболізуватися й надлишково накопичується в організмі. Такий процес був названий «пригнічення P450». Швидкість інгібування залежить від фармакокінетичних властивостей «конфлікуючих» препаратів.

Незважаючи на те, що інгібування цитохромопосередкованого метаболізму є великою проблемою, у клінічній практиці іноді створюються умови, що дозволяють цілеспрямовано використовувати цей феномен.

Індуктори цитохромів зменшують ефективність ліків-субстратів, але раптове скасування ліків-індуктора (або припинення впливу індуктора з навколишнього середовища) можуть зненацька призвести до сильного підвищення концентрації препарату в плазмі крові. Наприклад, якщо курці,

що звикли до постійного вживання кави, вирішують раптово кинути курити, у результаті чого знижується активність CYP 1A2, а в плазмі крові підвищується концентрація кофеїну. Це може підсилити вираженість синдрому відмови: головний біль і дратівливість.

Відомі і «нефармакологічні» індуктори, здатні істотно змінювати метаболізм лікарських сполук. Це поліароматичні вуглеводні сигаретного диму (індуктори ізоформи CYP 1A2), які призводять до необхідності призначення курцям більшої дози Теофіліну, а хронічне вживання алкоголю приводить до індукції ізоформи CYP 2E1, яка бере участь в метаболізмі парацетамолу.

Лікарські ураження печінки залежать від властивостей лікарського препарату, особливостей організму хворого та інших факторів (Рис. 3).

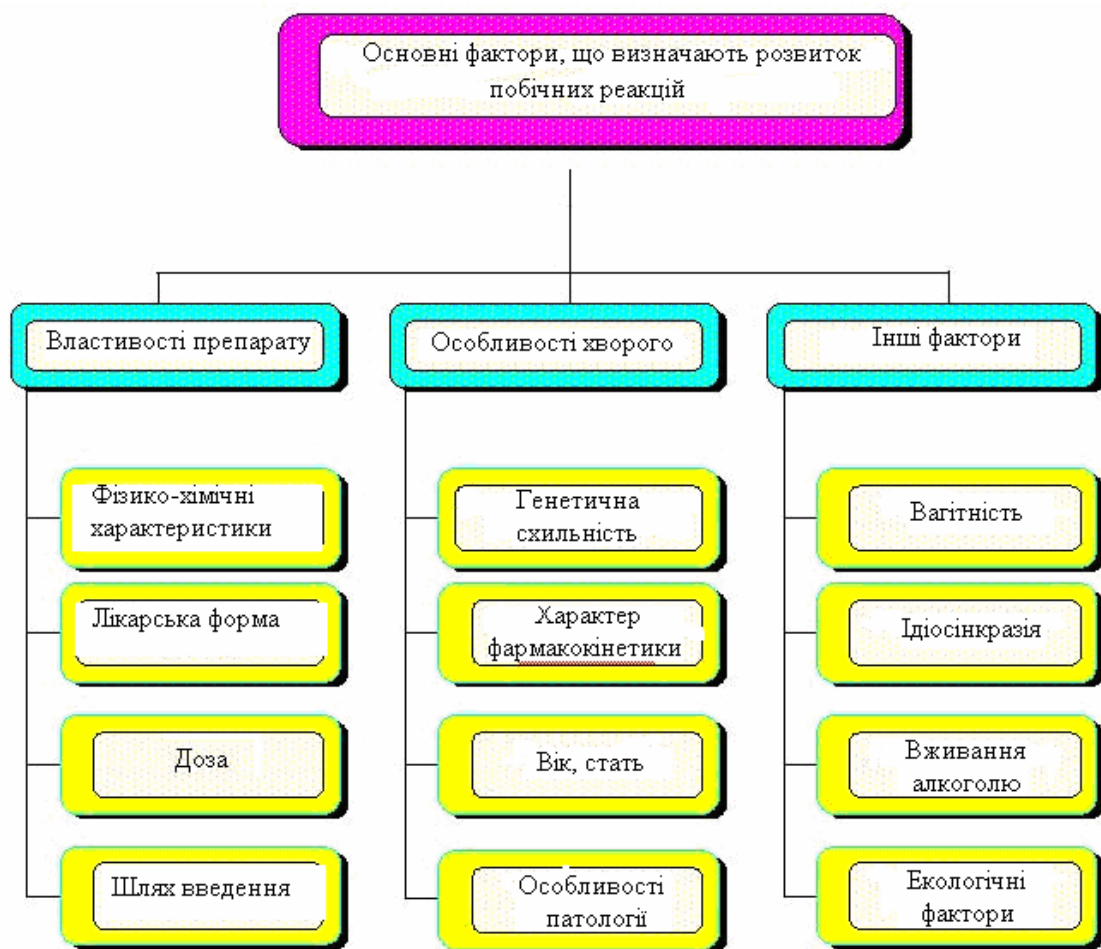


Рис. 3. Основні фактори, що визначають розвиток побічних лікарських реакцій.

Відомо, що імовірність побічних реакцій зростає зі збільшенням кількості одночасно прийнятих ліків. Встановлено, що якщо хворий приймає одночасно шість або більше препаратів, імовірність побічної дії в нього досягає 80%. Вагітність, стрес, збіднене білками харчування збільшують ризик токсичності медикаментів.

## 4.8 Класифікація лікарських засобів\*

### ***Засоби, які впливають на нервову систему:***

#### *1. Засоби, які впливають на центральну нервову систему*

Пригнічувальні: анальгетики (наркотичні, ненаркотичні), седативні та снодійні, транквілізатори, нейролептики, протисудомні, протипаркінсонічні, засоби для наркозу (анестетики).

Збуджувальні: стимулятори ЦНС, аналептики, антидепресанти, ноотропін, адаптогени, засоби, які впливають на мозковий кровообіг.

#### *2. Засоби, які впливають на периферичну нервову систему*

На чутливі нервові закінчення: місцевоанестезуючі, обволікаючі, адсорбуючі, в'язучі, відхаркувальні, подразнювальні.

На периферичні нейромедіаторні процеси: холіноміметики, антихолінергічні, м-холіноблокатори, гангліоблокатори, міорелаксанти, адреноміметики,  $\alpha$ -адреноблокатори,  $\beta$ -адреноблокатори, симпатолітики.

### ***Засоби, які впливають на органи та тканини:***

1. *Засоби, які впливають на серцево-судинну систему:* серцеві глікозиди, антигіпертензивні, антиаритмічні, гіпохолестеринемічні, спазмолітичні.

2. *Засоби, що впливають на видільну систему – діуретики.*

3. *Засоби, що впливають на кровотворну систему, на зсідання крові, на еритро- та лейкопоез (поез - утворення).*

4. *Засоби, що впливають на систему травлення - анорексигенні, гіркоти. Засоби замісної терапії (антацидні, противиразкові, гепатопротектори, послаблювальні, проносні), засоби проти діареї.*

5. *Засоби, які впливають на обмін речовин*

6. *Гормональні препарати гіпофіза, щитоподібної залози, паращитоподібних, статевих залоз, кори надниркових залоз, анаболічні стероїди - інсуліни та пероральні гіпоглікемічні засоби, вітаміни, макро- й мікроелементи, ферменти, антиферменти, засоби для трансфузійної терапії.*

### ***Хіміотерапевтичні засоби***

*Протимікробні, противірусні, протипаразитарні - антибіотики, сульфаніламідні, протитуберкульозні, протигельмінтні, протигрибкові, противірусні, протималярійні, протисифілітичні, антисептики, дезінфікуючі.*

*Препарати різних фармакологічних груп - антибластомні, антиалергічні, антидоти.*

\*Класифікацію складено на основі довідників «Лікарські засоби» М.Д.Машковського 2000 р., «Компендіум – лікарські препарати» і «Лікарські препарати», Відаль. 2001-2002 р.

## Контрольні запитання

1. Які основні напрямки фармакології?
2. Види дії ліків.
3. Шляхи введення лікарських засобів.
4. Наведіть класифікацію лікарських засобів.
5. Фармакокінетика та фармакодинаміка лікарських засобів.
6. Шляхи біотрансформації лікарських засобів.
7. У чому полягає механізм дії ліків?
8. Класифікація лікарських засобів.

## 5. ДОКЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПОТЕНЦІЙНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

### 5.1 Моделі в доклінічних дослідженнях

Поняття “модель” є одним з самих фундаментальних. До моделі звертаються тоді, коли необхідно мати уявлення про яке-небудь явище або предмет, що неможливо вивчити за звичайних умов. Моделювання дозволяє глибше проникнути в суть відносин, зв'язків, значень параметрів, що вивчаються.

Отже, *модель* – це спрощене уявлення вивчене в умовах *in vivo* або *in vitro* про кінетичні властивості лікарського засобу з визначенням важливих для дослідника параметрів. Для фармакокінетичного аналізу важливим параметром є швидкість потрапляння лікарського засобу в організм та швидкість його виведення, а також об'єм, в якому цей ЛЗ встигає поширитися.

У токсикологічних дослідженнях моделлю можуть бути тварини: гризуни, ссавці, примати. Тварини, що вибираються в якості моделі, повинні бути здоровими, пройти карантин протягом 10-14 днів. У тварин різних видів, різного віку та статі фармакологічний вплив потенційного лікарського засобу може дуже відрізнятись, тому необхідно проводити дослідження на кількох видах тварин, поряд з гризунами (миші, щури, мурчаки, кролі) необхідно використовувати негризунів (собаки, міні-свині, примати). Виходячи із зручності в поводженні, економічних факторів найчастіше використовуються миші, щури, кролі, мурчаки та собаки. Необхідно мати повну інформацію щодо розплідника, з якого одержані тварини.

Дослідження проводять на статевозрілих самцях та самках, підраховуючи дані окремо для кожної статі, оскільки певна стать може бути більш чутливою до фармацевтичної речовини. Для дослідження обов'язково визначається вік тварин, так як в залежності від віку може змінюватися фармакокінетика, біодоступність фармакологічної речовини та її токсичність. В дослідженні використовують тварин одного віку та однієї маси тіла

( $\pm 10\%$ ). Якщо лікарський засіб планується призначати для різних вікових групах, дослідження необхідно проводити на молодих тваринах або тваринах старше середнього віку. Якщо фармакологічний засіб пропонується для використання в педіатричній або геріатричній практиці, доклінічні дослідження токсичних властивостей проводяться відповідно на статевонезрілих або старих тваринах.

Тварини, що задіяні в експерименті, утримуються в умовах визначених правилами для експериментальних біологічних клінік (віваріїв). Чутливість організму тварин до фармакологічної речовини може змінюватися залежно від температури, вологості, освітлення, підстилки, вентиляції, засмічення приміщення. Суттєвий вплив на чутливість тварин до фармакологічної речовини може мати харчування. Тварини повинні одержувати стандартну дієту у відповідності до установлених норм. Необхідно контролювати склад води для пиття, так як домішки, що містить вода також можуть впливати на фармакокінетику фармакологічної речовини.

Фармакологічна речовина, що досліджується, повинна бути введена тваринам в один і той же час та пору року, оскільки це також є фізіологічним фактором впливу на дію фармакологічної речовини та її засвоєння.

Кількість тварин у групі для дослідження повинна забезпечувати можливість оцінки характеру токсикологічного ефекту та дати можливість адекватної оцінки для статистичної обробки даних і повинна бути не меншою 5. У довготривалих дослідженнях кількість тварин у групі становить не менше 10.

*Група експериментальних тварин* – це групи тварин, які беруть участь у дослідженні. Їм вводяться препарати, що досліджуються (в тому числі й препарат порівняння).

*Група інтактних тварин* – це тварини, які походять з одного стада з експериментальними групами, вони так як і дослідні групи пройшли період акліматизації. Їх утримання нічим не відрізняється від експериментальних тварин.

*Група контрольних тварин або негативний контроль* - це група тварин, у яких за допомогою моделі викликається патологія, але, на відміну від експериментальних груп, ця група не отримує досліджуваний препарат. Показники лабораторних досліджень, отримані в цій групі характеризують модель патології. З ними будуть порівнювати показники груп, які одержували лікувальні дози препарату. На основі цього порівняння робиться висновок про ефективність дії лікарського препарату. Якщо модель вибрана невірно і патологія буде занадто легкою, враховуючи стійкість імунної системи лабораторних тварин, за певний період часу тварини цієї групи також прийдуть до нормального стану без одержання лікування. Отже, моделювати патологію необхідно таким чином, щоб її негативні процеси збереглися в контрольній групі на той час, коли експериментальні групи закінчать курс лікування.

Дослідження токсичної дії *нових* фармакологічних речовин вивчається при одноразовому та багаторазових введеннях на кількох видах

експериментальних тварин: гризунів та негризунів. У довготривалих випробуваннях токсичності використовуються молоді тварини, з урахуванням тривалості життя даного виду.

Кількість тварин у групі при довготривалих випробуваннях визначається відповідно до поставленого завдання. При розрахунках кількості тварин у групі слід враховувати можливість загибелі їх в ході експерименту та необхідність проведення проміжних забоїв згідно протоколу випробувань. На період завершення експерименту має залишитись достатня кількість тварин для проведення повної біологічної оцінки. Крім того, для вивчення зворотності токсичного ефекту, після закінчення повторних введень кожна з досліджуваних груп має включати додаткову кількість тварин, які підлягають забою та дослідженню за повною програмою після відновлювального періоду (2-4 тижні). Ряд показників (гематологічні та біохімічні) мають бути визначені до початку введення досліджуваної речовини. Стосовно гризунів для кожного рівня доз повинно бути не менше 10-20 тварин кожної статі. При дослідженні токсичності на вищих, у порівнянні з гризунами, видах число тварин на кожну дозу повинно бути не менше 6-8 кожної статі.

### **5.1.2 Альтернативні тест-системи**

Досліди на теплокровних тваринах, що традиційно проводяться в токсикологічних експериментах, продовжують залишатися необхідними для оцінки ступеня токсичності нових хімічних сполук, що використовуються в медицині. Однак, такі дослідження (гостра токсичність, визначення LD<sub>50</sub>, LD<sub>100</sub>) супроводжуються проявами токсичної дії речовин та загибеллю тварин. З огляду на це в практиці токсикологічних та фармакологічних досліджень застосовують нові альтернативні методи.

ВООЗ схвалюють і настійно рекомендують використання альтернативних моделей для токсикологічних досліджень.

Переваги використання методів *in vitro* при розробці та дослідженні фармакологічних препаратів:

- економічність;
- високий ступінь відтворюваності результатів;
- оперативність одержання результатів;
- використання цих методів дає можливість виявляти органи-мішені для дії фармакологічної речовини (рецептори, клітинні компоненти, специфічні ферменти та ін.);
- технологічність методів, можливість автоматизації;
- можливість проводити дослідження на культурі клітин людини, що має високий ступінь кореляції з дослідженнями *in vivo*.

Культури клітин, що використовуються як альтернативні моделі, походять з різних органів та видів тканин. Їх можна розділити на 5 основних груп:

- постійні клітинні лінії людини (карциноми матки, гортані, легенів, лейкозні лейкоцити, нейробластоми, остеосаркоми);
- первинні культури клітин людини (гепатоцити, епітеліальні клітини нирки ембріона, ствольні клітини);
- постійні клітинні лінії тварин (фібробласти мишей, клітини гепатоми щурів, клітини нирок бика);
- первинні культури клітин тварин (гепатоцити щурів, мишей, радужні оболонки форелі, курячого ембріона);
- високоспеціалізовані клітини тварин (еритроцити периферичної крові мишей, сперматозоїди бика, м'язові клітини щура);
- для вивчення цитотоксичної дії лікарських засобів застосовуються тимоцити, які є найбільш чутливими до ушкоджуючої дії хімічних речовин.

Зазначені тест-системи дозволяють розрахувати стартову дозу для дослідження та скоротити використання тварин.

Крім клітинних ліній, до числа альтернативних методів належать також типові культури клітин органів, зрізи тканин, ізольовані органи, бактерії, одноклітинні організми.

Альтернативною тест-системою можуть бути водорослі. Наприклад, ряска (*Lemma minor*) є високочутливою до дії акрилонітрилу, тіоціанового натрію та ацетонітрилу. Виразність інгібування росту ряски під дією різних концентрацій цих речовин дає можливість рекомендувати цю тест-систему для моніторингу стічних вод.

На пекарських дріжджах також можна оцінювати гостру токсичність за ступенем інгібування росту клітин. Встановлена кореляція між інгібуванням росту дріжджів та гострою токсичністю у тварин.

Бактерії достатньо швидко реагують на зміну факторів навколишнього середовища і можуть бути використані для оцінки токсичності хімічних речовин так як індикатори якості навколишнього середовища.

На таких моделях досліджують показники рухливості, метаболічної активності, інтенсивність розмноження.

Серед простіших, інфузорії широко використовуються для дослідження цитотоксичності та мутагенності хімічних сполук. Оцінюється характер росту клітин та популяції в цілому, швидкість поведінки, швидкість росту, зміна поведінки, руху, морфологічні та біохімічні зміни.

Відомо, що основною ділянкою метаболізму ксенобіотиків є печінка. У зв'язку з цим особливого значення набувають дослідження з використанням тест-систем *in vivo* на основі клітин печінки. Такі моделі включають перфузійну печінку, окремі її частини, зрізи, гомогенат, субклітинні фракції, ізольовані клітини печінки, різні культури гепатоцитів, а також клітини, отримані методом генної інженерії. Основна вимога до таких систем – це збереження здатності до метаболізму. Суспензія мікросом печінки містить гладкий ендоплазматичний ретикулум гепатоцитів і активно використовується



при вивченні міжвидових метаболічних процесів, визначення основних ізоформ цитохрому Р-450, що каталізують біотрансформацію речовин.

Розробка принципово нових альтернативних моделей пов'язана з розвитком нової науки – токсикогеноміки, що відкриває можливості пізнання молекулярних механізмів токсичної дії речовин шляхом використання геному. Вивчення детальних механізмів експресії генів збільшує можливості прогнозування безпечності сполук. Показано, що геном людини, практично, подібний до геному мишей. Розроблені системи дозволяють досліджувати роль генів у захворюваннях людей та визначати вплив лікарських засобів і їх безпечність.

### 5.1.3 Статистична обробка даних

Розвиток медико-біологічних досліджень неможливий без розробки та впровадження методів статистичного аналізу експериментальних даних. Вибір статистичних методів базується на оптимальному сполученні ефективності статистичних критеріїв з математичними алгоритмами. Розроблено багато ефективних прийомів аналізу медико-біологічних даних, досягнута уніфікація збереження результатів у базах даних.

Імовірність статистичних гіпотез, що розглядаються, оцінюється за допомогою різних методів, які ґрунтуються на закономірностях розподілу випадкових величин. При цьому результати оцінки порівнюються з відповідними теоретично розрахованими значеннями, а самі методи статистичних оцінок поділяються на параметричні і непараметричні. Більшість параметричних методів припускає, що параметр, який вивчається, нормально розподіляється або його можна звести до нормального. Одним із важливих властивостей нормального розподілу є найбільш імовірне значення вимірюваної величини. В популярній програмі – STATISTICA таким значенням є середня арифметична величина параметра. До найбільш розповсюджених параметричних методів відноситься критерій Стьюдента для парних порівнянь (порівнюється інтактна група або контрольна з дослідною).

Суть будь-якого статистичного методу базується на оцінці імовірності статистичних гіпотез. Вихідною є так-звана “нульова гіпотеза”. В загальному вигляді вона заключається в наступному ствердженні: різниця між показниками двох груп, що порівнюються між собою, є випадковою, а насправді її не існує (різниця рівна 0). Але, якщо така різниця середніх показників двох груп даних менше певного рівня імовірності – ця гіпотеза відкидається. Математично обґрунтовано існування 3-ьох основних рівнів імовірності, при яких відкидається “нульова гіпотеза”:  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  та  $p < 0,001$ . Найбільше значення має рівень  $p < 0,05$ , досягнення якого є необхідним і достатнім для відхилення “нульової гіпотези”. Чим менше величина вказаної імовірності, тим більше впевненості в обґрунтуванні статистичної оцінки. Разом з тим, якщо вказане критичне значення

імовірності не досягнуто ( $p > 0,05$ ), то це ще не означає остаточного доведення відсутності відмінностей та взаємозв'язків.

Застосування статистичних методів починається з вибору відповідного плану експерименту. В звичайному експерименті кожному числу (або кожному значенню параметра, що досліджується) відповідає окрема тварина. Важливо, щоб було використано достатню кількість об'єктів дослідження. Важливим при більшості статистичних порівнянь є принцип “при інших рівних умовах”, який припускає, що групи, які порівнюються, відрізняються по впливу одного або кількох контрольованих факторів, що вивчаються (як правило це різні дози досліджуваної речовини) і знаходяться в умовах однакового впливу всіх інших (неконтрольованих) факторів. Виходячи з цього принципу, ідеальне дослідження впливу різних умов експерименту повинно бути виконано з використанням одного об'єкту, в один і той же проміжок часу, в близьких умовах досліду. Абсолютно ідентичних умов досягнути важко, але щоб максимально наблизитися до таких умов дослідники беруть тварин одного віку, витримують їх в однакових умовах, дають їм однакове харчування та воду, тобто намагаються виконати принцип “інших рівних умов”. Приклад застосування критерію Стьюдента для визначення вмісту цитохрому P<sub>450</sub> мікросомальної фракції печінки щурів, показано в таблиці 13.

Таблиця 13

**Вміст цитохрому P<sub>450</sub> мікросомальної фракції печінки щурів при повторних введеннях піразинамід, нмоль/мг білку**

	1 група	2 група	3 група	4 група
	Інтактні тварини	Піразинамід, 250 мг/кг	Піразинамід, 500 мг/кг	Піразинамід, 1000 мг/кг
Вміст цитохрому P <sub>450</sub> в печінці кожної тварини	0,467	0,248	0,351	0,461
	0,419	0,367	0,314	0,492
	0,388	0,568	0,537	0,567
	0,635	0,525	0,417	0,268
	0,600	0,323	0,479	0,212
	0,390	0,211	0,308	0,348
	M ± m	0,506±0,029	0,401±0,047	0,400±0,024
Вірогідність		p>0,05*	p<0,05*	p<0,05*

\* - вірогідність порівняно з групою інтактних тварин.

Після збору первинних даних при проведенні дослідження проводиться підрахунок кінцевих результатів з визначенням критеріїв вірогідності. Будь-який параметр, виміряний у деякої групи об'єктів, відрізняється від того ж середнього параметра загальної спільності. Статистики називають цей параметр середньою арифметичною величиною (M), а різниця між конкретно виміряною величиною і середнім арифметичним даного параметру називається стандартною помилкою середньої величини (m). При цьому загальноприйнятим є такий запис: середня величина  $\pm$  середня помилка.

При використанні пакету програм Statistic у таблицю вводиться кількість вимірювань та кожне виміряне значення двох груп тварин, що порівнюються. Як правило, порівнюється кожна експериментальна група з групою інтактних тварин.

Відгук тест-системи на дію досліджуваного препарату порівняно з контрольною групою, що не одержувала препарат, є основою для визначення вірогідності. Результат певного дослідження підраховується для кожної тварини (якщо тест-системою є тварини), потім підраховується середня статистична величина цього показника для групи тварин, стандартне  $\mu$  та  $\sigma$  відхилення від середнього значення. Такий же показник підраховується для контрольної групи тварин. Середні показники дослідної групи з стандартним відхиленням порівнюються із середніми показниками з стандартним відхиленням для контрольної групи і визначається вірогідність одержаних результатів щодо визначення відгуку тест-системи на дію досліджуваної речовини.

## **5.2 Проведення доклінічних досліджень безпечності та ефективності фармакологічних речовин**

Законодавство з контролю за хімічними сполуками, прийняте країнами-членами Організації з економічного співробітництва та розвитку (ОЕСР), вимагає від виробників лікарських засобів та інших хімічних речовин проведення лабораторних випробувань та надання результатів цих випробувань уповноваженим державним органам для оцінки небезпечності для людей та навколишнього середовища препаратів, що виробляються. Основний принцип цього законодавства полягає в тому, що оцінка потенційної небезпеки, пов'язаної з дією хімічної речовини, повинна базуватися на дослідженнях гарантованої якості.

Для забезпечення якості та достовірності даних, отриманих у результаті проведених досліджень, була створена система правил Належної Лабораторної Практики – Good Laboratory Practice (GLP). Чинні в наш час правила GLP були прийняті ОЕСР в 1997 році. За цими правилами проводяться дослідження в 17 країнах-членах ОЕСР: Австралія, Австрія, Бельгія, Великобританія, Греція, Данія, Італія, Канада, Нідерланди, Нова Зеландія, Норвегія, США, Франція, Німеччина, Швейцарія, Швеція, Японія. Принципи GLP поширюються на великий діапазон хімічних препаратів, куди включаються пестициди, фармацевтичні та косметичні засоби, промислові

хімічні продукти. Лікарські засоби, досліджені за правилами GLP визнаються всіма країнами-членами Організації економічного співробітництва та розвитку (ОЕСР). За цими правилами проводять дослідження країни, що є членами ОЕСР. Ці країни між собою встановили торгівлю лікарськими засобами, які вони виробляють без перевірки ефективності та безпечності.

### **5.2.1 Акредитація лабораторій**

В 1976 році в США Управлінням з контролю за якістю харчових продуктів та медикаментів (FDA) опубліковані правила GLP по контролю за доклінічними дослідженнями потенційних лікарських засобів.

Згідно правил GLP доклінічні дослідження можуть проводитися в лабораторіях, сертифікованих інспекторами Міжнародної організації з моніторингу за дотриманням принципів GLP, якщо країна є членом ОЕСР – то Національним уповноваженим органом з моніторингу дотримання принципів GLP.

*Критерії акредитація:*

1. Організація, у складі якої знаходиться лабораторія, повинна мати державну реєстрацію та право на проведення експериментальних досліджень.

2. На персонал лабораторії не повинні впливати особи, зацікавлені в результатах дослідження.

3. Лабораторія повинна бути компетентна в проведенні тестів, методів та всіх видів дослідження, визначених її акредитацією.

Основні критерії компетентності лабораторії:

а) рівень знань і навичок співробітників лабораторії;

б) попередній досвід роботи лабораторії у проведенні тестів, методів та видів дослідження.

4. Лабораторія повинна бути забезпечена лабораторним обладнанням в достатній кількості, здоровими лабораторними тваринами, які використовуються в дослідженнях.

5. Лабораторія повинна бути укомплектована достатньою кількістю співробітників, що мають необхідну освіту, підготовку та досвід виконання своїх функціональних обов'язків.

6. Умови навколишнього середовища, що підтримуються в лабораторії та прилеглий до неї території не повинні впливати на достовірність, якість одержаних результатів.

7. Необхідно організувати регулярне спостереження за проведенням досліджень та виконанням всіх умов акредитації.

*Дискваліфікація лабораторії.*

Підставою для дискваліфікації лабораторії можуть бути:

а) порушення одного чи кількох критеріїв акредитації;

б) порушення діючих норм, правил чи вимог, обов'язкових для виконання в лабораторії;

в) низька якість звітів про проведені дослідження;

г) приведення невірних, неперевіраних або фальсифікованих даних;

д) незадовільна робота комісії з білетики.

### 5.3 Основні терміни та поняття

При проведенні дослідження згідно принципів GLP обов'язково визначається головний дослідник, відповідальний виконавець, проводиться аудит (перевірка) випробувань. Визначаються обов'язки цих осіб. Принципи GLP визначають зміст та форму протоколу дослідження, первинних даних, заключного звіту.

*Протокол дослідження* – це детальна інформація щодо плану експерименту, включаючи хронологічний опис процедур, методів та матеріалів дослідження, спосіб уведення тест-зразка, його обґрунтування, характеристика тест-зразка, розчинника, періодичності аналізів, вимірювань, спостережень і обстежень, опис статистичних методів, що будуть використані.

Всі проведені в процесі випробування спостереження, одержані результати заносяться в зошит *Первинних даних*. Первинні дані – це всі експериментальні робочі записи та документація дослідницької лабораторії або їх завірені копії, що є результатом оригінальних спостережень, записи результатів дослідження. Такі дані включають фотографії, зроблені в ході дослідження, інформацію з комп'ютера, надиктовані дані, записи з автоматизованих приладів. Всі записи датують та вносять в окремий зошит. Після закінчення дослідження первинні дані повинні здаватися до архіву разом з іншою документацією.

*Заключний звіт*. За результатами кожного випробування повинен бути підготовлений заключний звіт, в якому представлена інформація щодо безпечності ЛЗ. Ґрунтуючись на даних випробування звіт відображає всі можливі сторони потенційної дії досліджуваних речовин. У звіті приводиться оцінка та обговорення результатів дослідження, робляться висновки. Звіт повинен бути підписаний і датований керівником дослідження, який засвідчує його достовірність, відповідність отриманим даним.

*Тест-системи*, що використовуються в доклінічних дослідження можуть бути:

- фізико-хімічні – апаратура, що використовується для одержання фізико-хімічних даних. Вона повинна бути повірена та відкалібрована;
- біологічні – тварини, у яких метаболізм, чутливість органів та систем, а, отже, і токсикологічний ефект подібні до людського.

*Досліджуваний препарат* – препарат, наданий для дослідження.

*Препарат порівняння* – препарат, який вводиться окремій групі експериментальних тварин у тих же дозах та тим же шляхом введення, що і досліджуваний препарат.

*Розчинники та носії* - досліджувана речовина розчиняється з використанням відповідного розчинника, переважно води, фізіологічного розчину або 0,5% водного розчину метилцелюлози. Якщо розчинення або суспендування до гомогенного стану в водному середовищі неможливе, використовується рослинна олія, водний розчин етанолу, пропіленгліколь та

інші розчинники. В такому випадку необхідно включити групу тест-системи для контролю розчинника.

*Допоміжні речовини* – повинні бути біологічно нешкідливі, сумісні з тканинами організму, не виявляти алергічну та токсичну дію, забезпечувати прояв належної фармакологічної дії ЛЗ з врахуванням його фармакокінетики, не впливати на біодоступність ЛЗ та надавати лікарській формі необхідні структурні або фізико-хімічні властивості. Допоміжні речовини поділяються на природні (полісахариди, крохмаль, білки желатин, колаген) та синтетичні (ВМС, ПАВ, твіни, емульгатори).

*Моніторинг дотримання принципів GLP* – періодична інспекція лабораторій та перевірка випробувань з метою підтвердження відповідності принципам GLP.

Керівник і персонал під час проведення дослідження та на етапі написання звіту можуть не знати, яку саме речовину вони тестують. Таке дослідження називається “сліпим”.

*Аудит дослідження* – поточні або кінцеві перевірки відповідності заключного звіту та ходу дослідження протоколу, відповідним СОП.

*Стандартні операційні процедури (СОП)* – це опис кожного технологічного процесу або кожної методики, яка буде використана в дослідженні, викладений у письмовому вигляді. При проведенні доклінічних досліджень за принципами GLP керівник установи призначає особу, що відповідає за написання СОП, перевірку наявності СОП на робочих місцях.

Написання СОП починається з СОП №1, а саме: СОП на написання СОПів. В цьому СОП описано як треба писати СОП, як присвоїти номер СОПу, як логічно класифікувати види робіт, щоб була можливість в будь-який час написати СОП відповідного розділу класифікації. Існує СОП, в якому описані права та обов'язки керівника дослідження, порядок складання протоколу дослідження, що буде проведено, порядок складання звіту і т.д. При написанні СОПів необхідно чітко уявляти хід дослідження, ведення відповідної документації, роботу з тест-системами, речовиною, що випробовується, контрольною речовиною та речовиною, наданою для порівняння, проведення маніпуляцій з тест-системами, спостереження за тест-системами і т.д. Обладнання, що використовується в дослідження також повинно мати СОП, написаний з інструкції використання та експлуатації приладу. Існує СОП на забір аналізів від тварин, на перенесення аналізів від місця забору до місця їх дослідження.

### ***5.3.1 Вимоги до керівника установи, відповідального виконавця, персоналу, приміщень, обладнання та документації***

Використання правил GLP при проведенні доклінічних випробувань ставить чітко визначені вимоги до персоналу лабораторії, яка проводить дослідження, приміщень та обладнання.

*Керівник установи*, відповідальний за дотримання співробітниками принципів GLP повинен забезпечити наявність кваліфікованого персоналу, приміщень, устаткування, матеріалів.

*Відповідальний виконавець* випробування повністю контролює проведення випробування, готує протокол проведення випробування, звіт проведеного випробування.

*Персонал*, залучений до випробування, повинен бути ознайомлений з принципами GLP, чітко виконувати інструкції, визначені СОП. Персонал відповідає за правильність та акуратність реєстрації первинних даних. Будь-які відхилення від протоколу, СОП, помилки, зроблені під час запису первинних даних повинні бути виправлені поряд з перекресленою цифрою (а не стерті або виправлені зверху).

*Лабораторія*, яка проводить випробування, повинна мати відповідні розміри та розташування. Вимоги до установ визначаються типом тест-систем, що використовуються у випробуваннях та видом випробувань, що проводяться. Якщо тест-система – тварини, необхідна наявність місця для їх утримання (віварію). Якщо тест-система – мікроорганізми, необхідно мати стерильні бокси для роботи з мікроорганізмами.

*Архів*. Необхідно забезпечити зберігання досліджуваних речовин до та після використання, приміщення для зберігання документації досліджень, що вже закінчилися.

Всі приміщення для проведення досліджень повинні мати чітко визначений правилами мікроклімат (температура, вологість, освітлення), та спеціальне оснащення для підтримки цього мікроклімату.

*Приміщення для підготовки речовин*, що випробовуються, та препаратів порівняння повинне мати устаткування, яке необхідне для проведення таких робіт, забезпечувати відсутність забруднення та можливе змішування досліджуваних речовин зі сторонніми речовинами (ваги, холодильники, морозильні камери, витяжні шафи).

*Прилади та апаратура*, які використовуються в дослідженнях, що проводяться за правилами GLP, повинні регулярно повірятися, калібруватися та ремонтуватися в разі необхідності. Приміщення, де установлене обладнання для проведення досліджень, також повинне мати чітко обумовлений мікроклімат та освітлення.

*Установи*, які проводять випробування відповідно до принципів GLP, використовують різноманітні матеріали, реактиви, контрольні сироватки. Згідно принципів GLP, організації-постачальники повинні надавати матеріали та реактиви, які відповідають вимогам користувачів. Реактиви повинні бути виготовлені фірмами-виробниками, визнаними провідними країнами та мати маркування із зазначенням дати випуску, терміну застосування після першої відкупорки. Лабораторія повинна бути забезпечена контрольними сироватками, реактивами для контролю також від виробників, визнаних на світовому рівні. Організаціям-постачальникам матеріалів та обладнання рекомендовано дотримуватися міжнародного

стандарту – Нормативів з розробки, виробництва, впровадження та обслуговування.

Звичайно, лабораторні дослідження проводяться локально, тобто установа, яка проводить дослідження, керівник досліджень знаходяться в одному місці, де проводяться всі процедури. Багатоцентрові дослідження проводяться за необхідності залучення спеціалістів різних спеціальностей.

*Організації-постачальники*, що працюють за принципами GLP, обов'язково повинні проходити акредитацію для підтвердження рівня виготовлення матеріалів.

Якщо тест-системами в дослідженні є тварини, то *корм* для тварин, *вода*, що споживається тваринами, та *підстилка* регулярно перевіряються з метою встановлення наявності регламентованого співвідношення складових, а також для перевірки відповідності нормам для цих матеріалів, закладених у вимогах принципів GLP. Вода та підстилка повинні мати відповідні сертифікати якості, регулярної перевірки аналізів цієї якості. Перевірка проводиться з метою виявлення забруднювачів, які можуть вплинути на результати випробувань. Організації-постачальники представляють відповідні документи, що підтверджують надійність проведених перевірок.

*Програмне забезпечення комп'ютерних систем* повинно бути ліцензійне. Виключається використання програм, взятих із неліцензійних джерел. Устаткування повинно відповідати міжнародному стандарту вимірювання, а організація, що проводить ремонт, калібрування та повірку приладів – повинно бути проведено в запропоновані інтервали часу компетентними організаціями. Керівництво несе відповідальність за відповідність устаткування та програмного забезпечення поставленим вимогам.

### **5.3.2 Контроль якості досліджень**

*Служба гарантії якості* – система внутрішнього контролю, що гарантує відповідність проведення дослідження правилам GLP, дотриманню стандартних операційних процедур (СОП).

Установи, які проводять випробування, повинні мати службу по забезпеченню контролю якості для гарантії того, що випробування виконуються відповідно до принципів GLP. До служби контролю якості випробувань входять співробітники, що не беруть участі у випробуваннях, але добре знайомі зі специфікою роботи та всіма процедурами випробування, є кваліфікованими та досвідченими.

Служба контролю якості випробувань, призначена адміністрацією установи, не має права брати участь у дослідженні, Зобов'язана мати всі СОП, що використовуються в дослідженні, підписувати протокол проведення дослідження та слідкувати за його дотриманням, проводити інспекції з метою визначення відповідності проведених випробувань принципам GLP, спостерігати за точним та правдивим описом первинних даних, перевіряти звіт про проведені випробування.



#### *Обов'язки служби контролю якості:*

- перевірити протокол випробувань на повноту викладення ходу дослідження та відповідність принципам GLP;
- у ході дослідження кілька разів проводити перевірку заповнення зошита первинних даних, ходу проведення дослідження, їх відповідність протоколу випробувань та СОП;
- переглядати заключні звіти для підтвердження того, що методи, процедури та спостереження точно описані, а внесені результати точно відображують вихідні дані випробування.

#### *Зберігання матеріалів та результатів дослідження.*

Вся документація дослідження, що вже проведене, повинна зберігатися в архіві протягом тривалого часу (близько 20 років). Доступ до архіву повинен мати лише персонал, уповноважений керівником установи. Зразки досліджуваної, контрольної речовин та речовини порівняння повинні збуригатися протягом терміну часу, який дозволяє здійснювати їх якісну перевірку.

### **5.4 Організація та проведення випробувань за принципами GLP**

Першим документом всіх доклінічних досліджень є протокол, який визначає мету дослідження, завдання поставлені для її досягнення, повний обсяг випробувань і, разом з СОП, повинен забезпечити максимальну деталізацію випробувань. Визначальним фактором дотримання протоколу є правильна та своєчасна реєстрація первинних даних, які є основою для оформлення заключного звіту. Вірогідність експериментальних даних дослідження є необхідною умовою відтворення ходу процесу випробувань.

Кінцевим результатом доклінічного дослідження речовини, проведеного у відповідності з принципами GLP є звіт, в якому представлена інформація щодо безпечності потенційного лікарського засобу. Грунтуючись на даних випробувань, він відображає всі можливі сторони потенційної дії досліджуваної речовини. Звіт надається до відповідного регулюючого органу (Фармакологічного центру при МОЗ України) для експертної оцінки.

Принципи GLP визначають форму та зміст заключного звіту, в якому на основі первинних даних відтворюються всі проведені дослідження та пишеться висновок за результатами випробувань.

Згідно принципів GLP, всі первинні дані, документація, протокол випробувань, заключний звіт, проби та зразки, отримані в ході доклінічних досліджень, за виключенням біологічних рідин, підлягають збереженню у спеціально оснащеному приміщенні архіву протягом терміну, визначеного нормативами.

Ефективність заходів щодо гарантування якості досліджень у наукових установах, які здійснюють випробування лікарських засобів, є однією з вимог стандарту GLP. Впровадження програми гарантії якості дає змогу керівництву установи-виконавця, замовників та представників державних інституцій впевнитися в тому, що дослідження виконано у відповідності з

принципами GLP. Відповідальність керівника установи-виконавця за дотримання принципів GLP передбачає підбір персоналу та відповідну організацію роботи групи гарантії якості дослідження. Ця група створюється як орган спостереження за ходом випробування і покликана звести кількість потенційних помилок до мінімуму, забезпечити швидке виявлення неадекватних показників та некоректних умов експерименту ще в процесі дослідження. Мета роботи такої групи – забезпечити успішне проведення дослідження шляхом нагляду за додержанням процедурних і контрольних нормативів GLP.

Отже, GLP охоплює організаційні заходи та регламентує умови, при яких експериментальні дослідження плануються, виконуються, корегуються, реєструються, представляються у вигляді звіту і зберігаються в архіві. Принципи GLP визначають структуру загальних правил, що забезпечують проведення досліджень, але не диктують як і якими методами його проводити.

При проведенні досліджень за принципами GLP застосовуються поширені методи, отримані результати виражаються простими числовими значеннями або словесною характеристикою проявів токсичної дії потенційних лікарських засобів.

#### ***5.4.1 Впровадження GLP на Україні***

В даний час єдина лабораторія, що має міжнародний сертифікат проведення доклінічних досліджень згідно принципів GLP є Міжвідомча лабораторія на базі Інституту фармакології та токсикології АМН України при МОЗ України. Персонал лабораторії одержав у 2005 році та підтвердив у 2007 році міжнародний сертифікат на проведення доклінічних досліджень згідно принципів GLP.

#### **5.5 Експериментальне дослідження загальнотоксичної дії потенційних лікарських засобів (доклінічні дослідження)**

Доклінічні токсикологічні дослідження обов'язкові для всіх лікарських форм фармакологічної речовини. Якщо лікарська форма містить стабілізатори, розчинники, домішки і т.п., то ці речовини досліджуються окремо. При комбінації кількох відомих фармакологічних речовин вивчається токсичність комбінації. Лікарську форму препарату необхідно вводити в дозах та тим шляхом введення, який передбачений інструкцією для медичного застосування.

Загальноприйнятим є розподіл токсикологічних досліджень на вивчення загальнотоксичної дії (“гостра” та “хронічна” токсичність) та дослідження специфічних видів токсичності (канцерогенність, мутагенність, алергізуюча дія, ембріотоксичність, тератогенність та вплив на імунний статус організму тварин).

Метою доклінічних токсикологічних досліджень фармакологічної речовини є:

- установлення характеру та виявлення шкідливої дії ЛЗ на організм експериментальних тварин та оцінка його безпечності;
- вивчення кумулятивних властивостей потенційних лікарських засобів;
- вивчення імунотоксичної дії;
- експериментальне вивчення ембріотоксичної дії;
- вивчення гонадотоксичної дії нових лікарських засобів та їх впливу на репродуктивну функцію тварин;
- вивчення потенційних лікарських засобів, що застосовуються в період вагітності та лактації, на ендокринні системи регуляції репродукції;
- оцінка мутагенних властивостей нових лікарських засобів;
- вивчення канцерогенних властивостей нових речовин;
- вивчення дії потенційного лікарського засобу в умовах експериментальної оцінки специфічної фармакологічної активності потенційних лікарських засобів (тобто, на тваринах).
- оформлення документації на отримання дозволу для проведення клінічних досліджень.

Додержання принципів GLP є обов'язковим для всіх видів досліджень: коротривалих (“гостра” токсичність), довготривалих (“хронічна” токсичність) досліджень та досліджень специфічних видів токсичності.

*Завдання доклінічних досліджень:*

- визначити токсичні дози фармакологічної речовини та дози, що мають мінімальну токсичну дію при максимальному збереженні терапевтичного ефекту;
- виявити органи та системи організму, найбільш чутливі до фармакологічної речовини, що вивчається, характер та ступінь патологічних змін, що виникають, а також дослідити зворотність порушень, які виникають при введенні фармакологічної речовини, що досліджується;
- вивчити залежність токсичних ефектів від дози та тривалості застосування фармакологічної речовини.

Відповідно до цих завдань доклінічні дослідження можна розділити на три етапи:

1. Вивчення “гострої” токсичності фармакологічної речовини при одноразовому або кількарізовому введенні через короткі проміжки часу (не більше 3-6 годин) протягом 1 доби. Короткотривалі дослідження – це дослідження, які за часом проведення не перевищують один робочий тиждень.

2. Вивчення “хронічної” токсичності при повторних довготривалих введеннях (тривалість введення визначається тривалістю курсу клінічного застосування).

3. Дослідження специфічних видів токсичності (канцерогенність, мутагенність, алергізуюча дія, ембріотоксичність, тератогенність, вплив на імунний статус організму тварин). Проводиться згідно методичних

рекомендацій у терміни, необхідні для виявлення токсичного ефекту. Наприклад алергізуюча дія ЛЗ може бути виявлена при одноразовому введенні ЛЗ, а канцерогенна дія – при введенні протягом 24 місяців.

Дослідження проводиться на різних видах тварин за умови відтворюваності моделі та більшої кількості патологічних порушень, що виникають у даного виду тварин. Вибір біологічних тест-систем також визначається доступністю, зручністю в догляді, економічністю. Догляд за тваринами, що беруть участь у дослідженні, регламентується протоколом та СОП. Тварини задіяні в дослідженні розміщують в окремій кімнаті де контролюється температура та вологість в межах, визначених відповідними стандартами. Цикл чергування світла та темряви повинен бути протягом 12 годин кожний. Раціон та якість води мають бути стандартними, відповідати всім вимогам харчування для даного виду тварин і постійно контролюватися. Тварини повинні утримуватися в клітках стандартного розміру, групами за статтю або індивідуально з врахуванням вимог кожного дослідження.

### ***5.5.1 Шляхи введення лікарських речовин***

Дослідження гострої токсичності потенційних лікарських засобів необхідно проводити при трьох шляхах введення, серед яких обов'язковим є рекомендований для клінічного використання. Враховуючи можливість випадкових ситуацій, які спричиняють нещасні випадки, суїцидальні та кримінальні отруєння при застосуванні ЛЗ та хімічних речовин у людей, доцільним є обов'язкове визначення гострої токсичності при пероральному шляху введення.

#### *1. Пероральне та внутрішньошлункове введення.*

Досліджувана речовина або її розчин дозовано вводяться в стравохід за допомогою зонда в максимально можливі об'ємі для даного виду тварин. Розчин можна ввести одноразово, залежно від виду експериментальних тварин. Іноді при вивченні хронічної токсичності примусовий спосіб введення може бути замінений введенням з їжею або водою.

#### *2. Інтраназальне введення.*

При інтраназальному введенні використовується тонкий катетер, в залежності від виду тварини. Оскільки ця процедура неприємна для тварин, її рекомендується проводити під легким наркозом.

#### *3. Ректальне введення.*

Перед введенням у пряму кишку собакам, кролям, морським свинкам ставлять очисну клізму. Розчини, що вводять за допомогою катетера, попередньо підігріваються.

#### *4. Внутрішньовенне введення.*

Незалежно від рекомендованого для застосування в клініці шляху введення, хоча б на одному виді тварин, необхідно провести дослідження гострої токсичності при внутрішньовенному введенні.

#### *5. На шкірні аплікації.*

За 24 години до нанесення на шкіру досліджуваної речовини шерсть на боковій поверхні тіла тварини видаляється стрижкою або голінням. Площа аплікації повинна складати не менше 10% загальної поверхні тіла тварини.

#### *6. Підшкірне та внутрішньом'язове введення.*

Ці шляхи введення є найменш травматичними для тварин. Введення слід проводити в ділянку потилиці, зону спини та боку, м'яз задньої ноги.

#### *7. Внутрішньошкірне введення.*

Для цього шляху введення використовується задня частина спини тварини. На місці введення препарату видаляється шерсть. Цілісність шкірного покриву порушується шляхом нанесення подряпин голкою або наждачним папером. Поява крові не допускається. На підготовлену таким чином ділянку шкіри наноситься досліджувана речовина.

#### *8. Внутрішньоочеревинне введення.*

Введення проводиться в черевинну частину живота. Тварина (переважно щурі та миші) тримається вниз головою. Таке введення слід проводити дуже обережно, щоб не ушкодити внутрішні органи тварини.

#### *9. Інгаляційне введення.*

Таке введення вимагає використання спеціального обладнання, тобто спеціальної камери. Необхідно також проводити контроль інгаляційної системи в камері за допомогою хроматографа.

### **5.5.2 Вивчення “гострої” токсичності**

*Гостра токсичність* - це шкідлива дія препарату, що проявляється після його одноразового введення або (якщо об'єм дуже великий) кількарізного введення з невеликими проміжками часу (не більше 6 годин) протягом однієї доби.

Гостра токсичність нових речовин вивчається на трьох видах експериментальних тварин: двох видах гризунів та одному негризунів.

При дослідженні гострої токсичності необхідно, щоб кількість груп та тварин у кожній групі забезпечувала визначення вірогідності параметрів гострої токсичної дії та встановлення середньої смертельної дози. Для кожної дози повинно бути не менше 5 тварин кожної статі. В окремих випадках допускається визначення гострої токсичності на тваринах однієї статі з наступною перевіркою чутливості щодо досліджуваної речовини тварин протилежної статі (хоча б одна доза). Отримання достатніх даних про токсичність досліджуваної речовини в залежності від статі, в даному випадку, свідчить про можливість обмеження досліджень з використанням тварин протилежної статі.

При визначенні токсикологічних характеристик речовин (лікарських засобів) визначення гострої токсичності, як правило, є першим етапом.

Мета дослідження гострої токсичності - одержання інформації щодо небезпечності досліджуваної речовини для здоров'я в умовах короткотривалої дії. Ці дані будуть взяті за основу для визначення класу токсичності і є першим

кроком до встановлення режимів дозування при проведенні досліджень підгострої, хронічної, специфічної токсичності та інших випробувань, а також надавати первинну інформацію про токсичну дію речовини або фармакологічного препарату.

*Підбір доз.* Доза розраховується в мг або в мл досліджуваної речовини на 1 кг маси тіла експериментальних тварин. При необхідності, досліджувана речовина розчиняється або суспендується з використанням відповідного розчинника (носія), який вводиться контрольній групі тварин в адекватних об'ємах.

Вибір доз може базуватись на результатах попередніх пошукових досліджень. Рекомендується використовувати 5 рівнів доз. За певних експериментальних умов будь-яка речовина, введена в досить великій кількості, здатна викликати токсичну дію. Тому лімітуючим показником при визначенні гострої токсичності є максимальна доза четвертого класу токсичності (малотоксичні речовини) з урахуванням шляху введення (табл. 14). Наприклад, для внутрішньошлункового введення максимальна доза речовини складає 5 г/кг маси тіла. Якщо при цьому не спостерігається загибелі, введення більшої дози, як правило, вважається недоцільним. У разі, якщо має місце загибель тварин внаслідок дії досліджуваної речовини, необхідно проводити випробування у повному обсязі.

Таблиця 14

#### Класифікація речовин за токсичністю в залежності від шляху введення

Клас токсичності	Ступінь токсичності	LD <sub>50</sub> , мг/кг маси тіла			
		внутрішньо-шлункове введення	нанесення на шкіру	підшкірне введення	внутрішньоочеревинне
I	Надзвичайно	<1	<5	<0,3	<0,2
II	Високотоксичні	1-50	5-43	0,4-15	0,3-10
III	Помірно токсичні	50-500	44-340	16-150	11-100
IV	Малотоксичні	500-5 000	350-2 810	151-1 500	101-1 000
V	Практично нетоксичні	5 000-15 000	2 820-22 590	15 01-4 500	1 001-3000
VI	Відносно нешкідливі	> 15 000	> 22 600	>4 500	>3 000

*Підготовка та проведення експерименту.* Відібрані після карантину і попередньо індивідуально помічені тварини розподіляються на групи за методом випадкового вибору з використанням комп'ютерної програми або таблиці рандомних номерів.

Перед введенням досліджуваної речовини тварини проходять акліматизацію протягом 10-14 днів в умовах кімнати для проведення дослідження, за 3 дні до закінчення періоду акліматизації їх оглядає ветеринарний лікар. Перед оральним введенням досліджуваної речовини тварини повинні голодувати: щури - протягом ночі, миші - 3-4 год. Потім їх зважують і вводять досліджувану речовину. Якщо за один раз неможливо ввести всю кількість речовини, необхідна доза може бути введена по частково протягом періоду, що не перевищує 24 год. Після перорального введення допуск до їжі надається не раніше, ніж через 3-4 год, що також необхідно враховувати за умов по часткового дозування при забезпеченні тварин їжею та водою в проміжках між введеннями.

**Тривалість спостережень.** Тривалість спостережень за станом тварини після одноразового (або багаторазового протягом 24 год) введення фармакологічної речовини складає не менше 14 днів. Але цей період не є жорстко фіксованим, оскільки визначається токсичними реакціями, швидкістю їх настання та тривалістю періоду відновлення, і, отже, при необхідності може бути пролонгований. Терміни виникнення та зникнення токсичних проявів, а також загибелі є важливими показниками, особливо за наявності відкладеної загибелі.

**Спостереження за клінічними проявами інтоксикації.** Дослідження гострої токсичності зводиться не лише до визначення  $DL_{50}$ . Дуже важливою, особливо за відсутності загибелі тварин при вивченні малотоксичних речовин, є інформація, отримана на підставі реєстрації дозозалежного впливу на різні функції організму. Індивідуальна маса тіла тварин повинна визначатись незадовго до введення досліджуваної речовини, через 3, 7 діб після її введення та перед забоєм (загибеллю); зміни маси тіла необхідно реєструвати, якщо термін виживання перевищує один день після введення речовини.

Систематична реєстрація показників стану кожної тварини повинна здійснюватись кожну годину в першу добу після введення, а далі не рідше одного разу на добу. Такі спостереження включають реєстрацію інтегральних показників (загальний стан, зміни положення тіла, стан шкіри, колір слизових оболонок, температура тіла) та окремих симптомів (міоз, сльозоточивість, саливація, діарея, зміни, кольору сечі та фекалій, сонливість, тремор, судоми та ін.). Інтерпретацію результатів клінічних спостережень подано в таблиці 15.

З метою мінімальної втрати тварин внаслідок канібалізму часто виникає необхідність огляду тварин частіше, ніж раз на день. Час загибелі тварин слід реєструвати якомога точніше. Тварин, знайдених мертвими, необхідно піддавати морфологічним дослідженням відразу або поміщати в холодильну камеру. Ослаблених або агонізуючих тварин слід ізолювати або забивати з використанням методів евтаназії.

## Клінічні прояви та їх інтерпретація при дослідженні гострої токсичності

Клінічні спостереження	Ознаки, що спостерігаються	Органи, тканини та системи — вірогідні мішені впливу досліджуваної речовини
I	2	3
<p>I. Дихання:</p> <p>затруднення носового дихання, зміна частоти, глибини дихання, зміна кольору шкіри</p>	<p>Ознаки, що спостерігаються</p> <p>А. Диспноє: ускладнення дихання, особливо вдих повітря, як правило, частота дихання сповільнена</p> <p>1. Черевне дихання: діафрагмальне, переважає черевинний видих над вдихом</p> <p>2. Ядуха: глибока затримка вдиху, що супроводжується стенозним диханням</p> <p>Б. Апноє: тимчасова зупинка дихання</p> <p>В. Ціаноз: синюшність хвоста, ротової порожнини та подушечок ніг</p> <p>Г. Тахіпноє: прискорене та, в основному, поверхнєве дихання</p> <p>Д. Виділення з ніздрів: червоні або безбарвні</p>	<p>Порушення функцій дихального центру, параліч міжреберних м'язів, гальмування холінергічної системи</p> <p>Порушення функцій дихального центру, легневий набряк</p> <p>Порушення функцій дихального центру, легенево-серцева недостатність</p> <p>Легенево-серцева недостатність, набряк легень</p> <p>Стимуляція дихального центру, легенево-серцева недостатність</p> <p>Набряк легень</p>
<p>II. Судоми: спостерегаються спонтанні скорочення м'язів</p>	<p>Ознаки, що спостерігаються</p> <p>А. Клонічні судоми: конвульсивні скорочення чергуються з розслабленням м'язів</p> <p>Б. Тонічні судоми: постійні скорочення м'язів, які супроводжуються стійким витягуванням задніх кінцівок</p> <p>В. Тоніко-клонічні судоми: можуть проявлятися послідовно обидва типи судом</p> <p>Г. Асфіксічні судоми: як правило, клонічного типу, але супроводжуються ядухою та піанозом</p> <p>Д. Опістотонус: тетанічні спазми, при яких спина прогинається, і голова приймає орсальне положення</p>	<p>ЦНС, недостатність дихання, нервовом'язова, вегетативна системи</p>



1	2	3
III. Серцево-судинні симптоми	<p>А. Брадикардія: зменшення частоти серцевих скорочень</p> <p>Б. Тахикардія: збільшення частоти серцевих скорочень</p> <p>В. Вазодилатація: розширення судин, почервоніння шкіри, хвоста, язика, вух, подушечок ніг та підвищення температури тіла</p> <p>Г. Вазоконстрикція: звуження судин, побліднення шкіри, зниження температури тіла</p> <p>Д. Аритмія: порушення серцевого ритму</p>	<p>Вегетативна система, легенево-серцева недостатність</p> <p>Вегетативна система, легенево-серцева недостатність</p> <p>Вегетативна система, ЦНС, збільшення серцевого викиду</p> <p>Вегетативна система, ЦНС, зменшення серцевого викиду</p> <p>ЦНС, вегетативна система, легенево-серцева недостатність, інфаркт міокарда</p>
IV. Офтальмологічні симптоми	<p>А. Лакримація: надмірна сльозоточивість</p> <p>Б. Міоз: звуження зіниці незалежно від наявності або відсутності світла</p> <p>В. Мідріаз: розширення зіниці незалежно від наявності або відсутності світла</p> <p>Г. Екзофтальм: зміщення очного яблука вперед</p> <p>Д. Птоз: незворотнє опущення верхніх повік</p> <p>Е. Хромолакріорея (червона лакримація)</p> <p>Є. Релаксація мигальних перетинок</p> <p>Ж. Затеменнення рогівки, запалення райдужної оболонки, кон'юнктивіти</p>	<p>Вегетативна система</p> <p>Вегетативна система</p> <p>Вегетативна система</p> <p>Вегетативна система</p> <p>Вегетативна система</p> <p>Вегетативна система (геморагії, інфекція)</p> <p>Очі (запалення)</p>
V. Салівація	<p>А. Надмірне виділення слини: зволоження шерсті навколо рота</p>	<p>Вегетативна система</p>
VI. Пліорея	<p>А. Скорочення м'язів волосяних фолікулів з підняттям шерсті</p>	<p>Вегетативна система</p>
VII. Аналгезія	<p>А. Збільшення порогу чутливості на індукований біль</p>	<p>Сенсорна та ЦНС</p>
VIII. Тонус м'язів	<p>А. Гіпотонус: генералізоване зменшення м'язового тону</p> <p>Б. Гіпертонус: генералізоване збільшення м'язового тону</p>	<p>Вегетативна система</p> <p>Вегетативна система</p>

1	2	3
<p>IX. Рухова активність: зміна швидкості та природи рухів</p>	<p>А. Зменшення або збільшення спонтанної рухової активності                      Б. Сонливість: тварини проявляють сонливість, але можуть бути розбуджені, проявляючи нормальну активність                      В. Втрата контрлатерального рефлексу                      Г. Анестезія: втрата більового рефлексу та більової чутливості (тварина не реагує на пощипування хвоста та пальців)                      Д. Кагалепсія: тварина залишається в позі, яку їй надали                      Е. Атаксія: неспроможність контролювати та координувати рухи під час ходи за відсутності м'язової еластичності та парезів                      Є. Нетипові способи пересування: хода на пальцях, судомість, підсакування та ін.                      Ж. Прострація: нерухомість та положення на животі                      З. Тремор: дрижання тіла або окремих його частин                      І. Фасцикуляція: рухливість м'язів спини, плечей, задніх кінцівок та пальців ніг</p>	<p>Соматомоторні, ЦНС                      Центр сну ЦНС                      ЦНС, сенсорна та нервово-м'язова система                      ЦНС, сенсорна система                      ЦНС, сенсорна, нервово-м'язова, вегетативна системи                      ЦНС, сенсорна система                      ЦНС, сенсорна, нервово-м'язова системи                      ЦНС, сенсорна, нервово-м'язова системи                      ЦНС, нервово-м'язова система                      Нервово-м'язова, вегетативна системи</p>
<p>X. Показники стану шлунково-кишкового тракту (екскременти)</p>	<p>А. Кал: твердий та сухий .                      Б. Кал водянистий, зневоднення</p>	<p>Вегетативна система, порушення перистальтики (запор)                      Вегетативна система, порушення перистальтики (діарея).</p>
<p>XI. Блювання</p>	<p>А. Блювання та потяги до блювання</p>	<p>ЦНС, сенсорна, вегетативна системи (у щурів блювання відсутнє)</p>
<p>XII. Діурез</p>	<p>А. Сеча червона                      Б. Спонтанне сечовиділення</p>	<p>Порушення функції нирок                      Вегетативна, сенсорна система, ЦНС</p>
<p>XIII. Стан шкіри</p>	<p>А. Набряк                      Б. Еритема</p>	<p>Запалення, ниркова недостатність, тривала іммобілізація                      Запалення, подразнення, сенсibiliзація</p>

**Параметри гострої токсичності.** Ці параметри дають необхідну інформацію щодо безпечності потенційного лікарського засобу та дозволяють прогнозувати ризик виникнення негативних ефектів на стадії клінічних випробувань.

Визначення LD<sub>50</sub> при дослідженні гострої токсичності проводиться для попередньої оцінки токсичності на стадії скринінгу, яка передусе детальному вивченню нових лікарських засобів (субстанцій), при проведенні випробувань експертного характеру (наприклад, порівняльні випробування генеричних препаратів). Найбільш універсальним та таким, що дозволяє отримувати порівняно повну інформацію, незважаючи на ряд недоліків (наприклад, необхідність великої кількості тварин), є метод пробіт-аналізу з використанням математичних розрахунків або графічного способу згідно з Litchfield та Wilcoxon.

При прогнозуванні токсичної дії досліджуваної речовини значно важливішим та показовішим, порівняно з показником LD<sub>50</sub>, є нахил кривої «логарифм дози - ефект». Іноді нахил кривої може давати ключ до розгадки механізму токсичної дії, вказуючи на швидкість початку токсичної дії або швидкість адсорбції. Плоска крива свідчить про наявність значного запасу безпечності. Часто крива дає змогу робити екстраполяцію відгуку на низькі дози (напр., LD<sub>10</sub>, LD<sub>1</sub>). Це особливо важливо при порівнянні речовин, які мають однакові величини LD<sub>50</sub>, але різні нахили кривої, що є свідченням абсолютно різних токсикологічних характеристик. Паралельність дозозалежних кривих може вказувати на подібність механізму токсичної дії, кінетичної моделі та прогнозу. Для потенційних лікарських засобів дуже важливою є кількісна характеристика взаємовідношення між виявленим токсичним ефектом та специфічною терапевтичною дією й іншими фармакологічними параметрами. Найпоширенішим є визначення так званого «терапевтичного індексу», який розраховується за співвідношенням LD<sub>50</sub>, ED<sub>50</sub>. Індекс Вгоск та Schnesder розраховується як відношення LD<sub>5</sub>/ED<sub>95</sub>.

Для характеристики безпечності препарату вираховують *терапевтичний індекс* (TI). Терапевтичний індекс - це відношення середньої летальної дози до середньої терапевтичної:

$$TI = \frac{LD_{50}}{ED_{50}}$$

де LD<sub>50</sub> – летальна доза, яка викликає загибель 50% тварин,

ED<sub>50</sub> - ефективна доза, яка викликає фармакологічний ефект у 50% тварин.

Терапевтичні індекси можуть визначатись не лише за летальною дозою, а й за іншими токсичними та фармакологічними ефектами, наприклад, гепатотоксичністю, нейротоксичністю та терапевтичною або профілактичною дією, а також фармакокінетичними параметрами (відношення концентрації препарату в плазмі, яка викликає побічні ефекти, до

концентрації, що проявляє терапевтичну дію). Якщо співвідношення терапевтичного індексу досліджуваного та стандартного препаратів (відносний індекс) за умов досліджень з використанням різних моделей близькі, то даний засіб може використовуватися у клінічній практиці.

Крім показників, вказаних вище, при проведенні скринінгу біологічно активних речовин та їх доклінічному токсикологічному дослідженні розраховується «коефіцієнт небезпечності», який вказує на ризик або можливість токсичної дії дози, що проявляє терапевтичний ефект у 90-95 % експериментальних тварин.

**Патоморфологічні дослідження.** Після забою (загибелі) тварин необхідно проводити їх розтин та здійснювати макроскопічні обстеження і опис внутрішніх органів, а також визначення відносної маси органів: серця, печінки, селезінки, нирок, надниркових залоз, простати, гонад, яєчників, головного мозку, гіпофізу. Всі виявлені патологічні зміни реєструються і підлягають подальшому гістологічному дослідженню.

**Оцінка отриманих результатів.** Дослідження гострої токсичності та встановлення  $LD_{50}$  дозволяє отримати відомості щодо:

- класу токсичності фармакологічної речовини;
- загальної інформації щодо токсикодинаміки та токсикокінетики;
- порівняльної характеристики параметрів токсичності фармакологічної речовини та прототипу (або аналога) шляхом співставлення їх  $LD_{50}$ , зон токсичної дії, кривих залежності легальності від дози;
- відносної токсичності речовини залежно від шляху надходження до організму, видової та статевої чутливості;
- дозозалежних ефектів;
- характеру функціональних порушень та морфологічних змін;
- можливого механізму дії;
- умов подальшого дослідження підгострої, хронічної токсичності (вид тварин, дози, терміни, шляхи введення, спосіб введення) та напрямки поглибленого вивчення.

Визначення параметрів гострої токсичності дає можливість отримати необхідну інформацію для вирішення наступних завдань:

- встановлення рівня переносимості, токсичності та летальних доз фармакологічної речовини, причин падіння тварин в експерименті при дослідженні фармакологічної речовини та отримання даних щодо її токсикодинаміки;
- визначення співвідношення між дозою та негативними ефектами;
- визначення видової та статевої чутливості лабораторних тварин щодо дії досліджуваної речовини;
- встановлення параметрів токсичності для визначення доз при проведенні підгострих та хронічних експериментів та дослідження спеціальних видів токсичності;

- порівняльна оцінка токсичності досліджуваної речовини з найактивнішим з існуючих прототипів або аналогом, який використовується в практичній медицині.

### ***5.5.3 Токсичність при повторних введеннях***

Незважаючи на те, що за даними гострої токсичності досліджувана речовина може бути не токсичною, пролонговане її введення навіть у низьких дозах, часто здатне призвести до розвитку інтоксикації внаслідок накопичення в організмі токсичних метаболітів. Тому дослідження при повторних введеннях є обов'язковим.

Вибір тест-системи для дослідження токсичності при повторних введеннях може визначатися інформацією про тварин з найбільшою видовою чутливістю до досліджуваної речовини.

Для проведення дослідження субхронічної та хронічної токсичності краще використовувати молодих тварин.

При розрахунку кількості тварин у групі слід враховувати можливість загибелі тварин в ході експерименту.

Шлях введення повинен відповідати тому, який буде використовуватися в клініці або бути максимально наближеним до нього.

Токсичність при повторних введеннях поділяється на підгостру, субхронічну та хронічну в залежності від терміну введення досліджуваної речовини.

*Метою дослідження підгострої токсичності* є одержання даних щодо токсичної дії речовини протягом обмеженого часу.

*Мета дослідження субхронічної токсичності* - визначення шкідливої дії при повторних введеннях протягом певної частини тривалості життя експериментальних тварин. Планування таких досліджень дає змогу одержувати інформацію щодо кумулятивних властивостей речовини, впливу на органи та системи, а також переносимості речовини при відносно невисоких дозах за умов її введення протягом періоду часу, який не перевищує 10% тривалості життя тварини.

*Мета дослідження хронічної токсичності:*

- визначення токсичних ефектів внаслідок проведення тривалих випробувань;
- виявлення рівнів доз, при яких не спостерігається токсична дія протягом експерименту;
- визначення природи шкідливої дії та межі безпечності речовини.

Вивчення хронічної токсичності є обов'язковими для таких лікарських засобів:

- оригінальних, створених з використанням нових активних субстанцій або новою якісною (кількісною) комбінацією відомих активних субстанцій;
- відтворених за ліцензійною технологією;
- з новими допоміжними речовинами;
- з відтвореними допоміжними речовинами;
- гомеопатичних.

**Тривалість дослідження** при повторних введеннях може варіювати залежно від тривалості його використання в клінічній практиці .

<u>Тривалість використання в клініці</u>	<u>Тривалість повторних введень при вивченні токсичності</u>
Одноразове введення або кілька доз протягом однієї доби	14 діб
Повторні введення до 7 діб	28 діб
Повторні введення до 30 діб	3 місяці
Повторні введення понад 30 діб	6 місяців

Дослідження *підгострої* токсичності передбачає введення досліджуваної речовини протягом 14 або 28 днів, тривалість *субхронічного* експерименту, як правило, не перевищує 10 % середньої тривалості життя тварин і, наприклад, для гризунів складає 90 діб. Дослідження *хронічної* токсичності на щурах та мишах передбачає щоденне введення досліджуваної речовини протягом 6 місяців. Для негризунів цей термін складає 1 рік.

Тривалість дослідження субхронічної та хронічної токсичності потенційного лікарського засобу може варіювати залежно від тривалості його використання в клінічній практиці.

**Рівні доз.** При повторних введеннях досліджувана речовина вивчається у трьох дозах:

- умовно терапевтичній (мінімальна доза)
- максимальній – для виявлення передбачуваної токсичності (часто ця доза вибирається більшою в 10 разів за терапевтичну)
- проміжній між мінімальною та максимальною.

**Спостереження.** Токсична дія досліджуваної речовини базується на:

- визначенні дозозалежного ефекту шляхом реєстрації специфічних та неспецифічних симптомів інтоксикації, клінічної картини її розвитку, перебігу інтоксикації та її наслідків;

- детальних спостереженнях за фізичним станом, проведення щоденних оглядів, офтальмологічних досліджень, реєстрації споживання їжі та води, визначення маси тіла кожної тварини.

- спостереженнях за зміною стану шкірного покриву, очей, шерсті, слизових оболонок, температури тіла, частоти дихання та поведінки тварин;

- інформації, одержаній після патоанатомічних та патоморфологічних досліджень забитих та померлих тварин;

- проведенні гематологічних, біохімічних та патоморфологічних досліджень, зважуванні органів після запланованого забою експериментальних та контрольних тварин, що проводиться вкінці дослідження.

**Патоморфологічні дослідження.** Одним з найважливіших аспектів у токсикологічних дослідженнях є посмертні макроскопічні дослідження. Вони передбачають огляд зовнішнього стану, наприклад, охайність шерсті, її колір та стан, локалізацію та розміри уражень, стан м'язів. Для виявлення ушкоджень та відхилень від норми необхідно проводити огляд всіх органів. По можливості, ураження мають бути сфотографовані (особливо новоутворення) та виміряні.

**Маса органів.** Зважування органів експериментальних тварин є одним з елементів токсикологічного дослідження, яке спрямоване на виявлення органу-мішені. У хронічних дослідженнях зважуванню підлягають: печінка, серце, нирки, селезінка, гонади, мозок, надниркові та щитовидна залози, тимус (з мінімальним інтервалом часу після забою). За визначеною масою органів розраховуються їх масові коефіцієнти.

Всі органи та тканини підлягають гістологічному дослідженню. У токсикології, звичайно, використовується фарбування гематоксиліном та еозином. Дані гістологічного вивчення співставляються з біохімічними та гематологічними показниками.

**Біохімічні дослідження сироватки крові.** Біохімічні дослідження включають аналіз показників функціонування окремих органів (табл. 10), що дуже важливо для визначення органу-мішені токсичної дії. При цьому використовується плазма та сироватка крові. При взятті проб крові лаборант повинен відрізнити артеріальну кров (яскраво-червону) від венозної (темно-червоної). Змішування артеріальної та венозної проб крові призводить до додаткових помилок. Взяття крові проводиться після голодування, термін якого для більшості видів тварин становить 12-14 годин. Миші, які мають значно більшу швидкість метаболізму, повинні голодувати протягом 3-4 годин.

При взятті крові слід запобігати травмуванню тварин та стресу, що може негативно вплинути на досліджувані показники. Це обумовлює необхідність використання в окремих випадках анестезії. При виборі анестетиків слід враховувати, що деякі з них є індукторами мікосомальних ферментів, і це, в свою чергу, може впливати на досліджувані показники. Поширеним анестезуючим агентом для гризунів є 70 % двоокис вуглецю, використання якого створює мінімум проблем. Тривалість його дії для щурів та мишей становить 15 - 45 сек в залежності від маси тіла тварини, при цьому необхідно слідкувати за кольором слизових оболонок та вух, які в разі глибокої гіпоксії змінюються з яскраво-фіолетового до темно-фіолетового кольору.

Окремі біохімічні та гематологічні дослідження крові вимагають використання антикоагулянтів.

**Аналіз сечі.** Аналіз сечі, так само, як крові та лімфи, проводиться для визначення впливу досліджуваної речовини на органи тварин. Зібрана з використанням метаболічних клітин сеча, аналізується за показниками кольору, мутності, рН, питомої ваги, мікроскопії осаду.

Крім того, проводяться біохімічні дослідження сечі за такими показниками: наявність та кількість білку, цукру, кетонів, білірубіну, уробіліногену, іонів натрію та калію.

**Гематологічні дослідження.** Гематологічні аналізи повинні включати визначення концентрації гемоглобіну, кількості еритроцитів та лейкоцитів (загальну та диференційну), морфологію та резистентність еритроцитів, показники згортання крові. Слід звертати увагу на зміну формули, виникнення незрілих форм або патологічних елементів. Зміни відносної кількості з боку одного або більше елементів білої крові може вказувати на значні порушення:

Нейтрофіли. Зростання кількості супроводжує гостру інфекцію, некроз тканин, гемоліз, судоми.

Лімфоцити. Відносна кількість зростає при гострих та хронічних інфекціях, гепатитах та недостатньому харчуванні.

Базофіли. Понижені при гіпертиреозидизмі.

Еозинофіли. Зростають при алергії, запаленнях, злоякісній анемії та деяких отруєннях, наприклад, фосфорорганічними речовинами.

Моноцити. Кількість зростає при протозойних інфекціях та деяких видах отруєнь, зокрема, тетрахлоретаном.

**Інші показники.** Досліджуються також показники, які характеризують функціональний стан життєво важливих органів та систем, зокрема параметри електрокардіографії, частота дихання, в ряді випадків - тиск крові, енцефалографія, стан нервової системи, функціональні проби печінки та нирок.

Всі кількісні та якісні показники, зареєстровані в результаті досліджень токсичності потенційного лікарського засобу при багаторазових введеннях, підлягають статистичній обробці з використанням загальноприйнятих методів.

Розрахунок дозозалежних ефектів, токсичних доз, показників ED<sub>50</sub>, LD<sub>50</sub> та інших проводиться методом J.T.Litchfielda та F. Wilcoxon. Якщо відповідні статистичні показники виявляють вплив ЛЗ на досліджувані параметри, ефект може бути незначущим, оскільки результати можуть вкладатись в межі варіабельності даного параметра, що часто спостерігається. Це необхідно враховувати при інтерпретації одержаних результатів.

На підставі результатів дослідження токсичності при багаторазовому введенні досліджуваної речовини визначається картина інтоксикації, а в разі наявності випадків загибелі тварин визначаються параметри хронічної токсичності, включаючи LD<sub>50</sub>.

**Екстраполяція даних.** Міжвидова екстраполяція рівнів доз та перенесення їх на людину є досить відповідальним моментом. Біологічна активність більшості лікарських засобів відносно відповідного класу ссавців може визначатись певною константою. Константа біологічної активності (K<sub>a</sub>) розраховується за формулою:

$$K_a = \frac{R}{DL \text{ (або DE)}}$$

де R - коефіцієнт видової стійкості;

DL - величина летальних доз;

DE - ефективна доза речовини.

Відповідно до загальноприйнятих вимог вибір дози потенційного лікарського засобу для проведення I фази клінічних випробувань здійснюється на підставі результатів токсикологічних досліджень та базується на співвідношенні між масою (m) і поверхнею тіла (S) людини і тварини. Для відповідних підрахунків користуються таблицею 16.



## Співвідношення між дозами лікарської речовини у людини і тварин

Миша (20 г)	Щур (200 г)	Мурчак (400 г)	Кролі (1,5 кг)	Кішка (2,0 кг)	Мавпа (4,0 кг)	Собака (12,0 кг)	Людина (70 кг)
387,9	56,0	31,5	14,2	13,0	6,1	3,1	1,0

Для перерахунку дози для тварин на дозу для людей (береться середня маса 70 кг), необхідно дозу для тварин помножити на цифру, вміщену в нижньому рядку. Наведений підхід є висновком “теорії подібності”, що припускає нелінійне зростання фізіологічних параметрів зі збільшенням маси тіла.

**Звіт.** У заключному звіті повинні бути представлені параметри хронічної токсичності, коефіцієнт кумуляції, визначені зони токсичної дії та дози, які не викликають шкідливих ефектів. Відносну кількісну оцінку можливого хронічного отруєння, з урахуванням найбільш чутливого виду тварин, може бути проведено відповідно до градації небезпечності трьох доз препарату, досліджених в хронічному експерименті (табл. 17).

## Критерії небезпечності

Коефіцієнт кумуляції	Дозовий рівень шкідливої дії речовини в експерименті	Ступінь небезпечності хронічного отруєння
1-5	1 ED <sub>50</sub>	високонебезпечний
5-10	5 ED <sub>50</sub> – 10 ED <sub>50</sub>	помірно небезпечний
>10	> 10 ED <sub>50</sub>	малонебезпечний

Одержані результати подаються у вигляді таблиць з описом та завершуються обговоренням відповідно до сучасних уявлень про критерії небезпечності в токсикології, співставленням виявлених змін з контролем, дозозалежності характеру порушень, виходу зареєстрованих показників за межі фізіологічної норми, оборотності змін при вивченні відновлювального періоду і т.д.

У висновку, на основі проведених досліджень, повинні бути представлені:

- точка зору дослідників щодо рівня небезпечності отруєння при тривалому введенні;
- прояви токсичності у разі передозування та способи їх усунення;
- прогноз можливих побічних реакцій, необхідних обмежень та застережень при проведенні клінічних випробувань.

При оцінці результатів тривалих випробувань (підгострої, субхронічної та хронічної токсичності) необхідно дотримуватись чотирьох правил:

1. Оцінка експериментальних даних при багаторазовому введенні досліджуваної речовини повинна бути логічною і базуватись на досконалих знаннях матеріалу, що досліджується.

2. Після завершення експерименту аналізувати можна лише статистично оброблені показники.

3. Експеримент має проходити так, ніби кожен день є першим днем випробувань.

4. Отримані експериментальні дані будь-хто інший може точно повторити.

#### **5.5.4 Вивчення специфічної ефективності лікарського засобу**

Потенційні лікарські засоби, що надходять на доклінічні дослідження, мають рекомендацію до застосування при певній патології і класифікуються згідно класифікації лікарських засобів прийнятій в спеціальній фармакології:

- засоби, що впливають на центральну нервову систему;
- засоби, що впливають на периферичну нервову систему;
- засоби, що впливають на серцево-судинну систему;
- засоби, що впливають на видільну систему;
- засоби, що впливають на кровотворну систему;
- засоби, що впливають на систему травлення;
- засоби, що впливають на обмін речовин;
- гормональні препарати гіпофіза, щитоподібної залози, паразитовидних, статевих залоз, кори надниркових залоз, анаболічні стероїди;
- протимікробні, протівірусні, протипаразитарні потенційні ЛЗ.

Дослідження специфічної ефективності проводяться згідно методичних рекомендацій, за допомогою яких моделюється експериментальна патологія у тварин. У тварин викликають захворювання (цироз печінки, серцево-судинні захворювання, алкоголізм, туберкульоз, інфіковані рани, офтальмологічні, лор захворювання), а потім з застосуванням лікарського засобу проводиться лікування експериментальних груп тварин. В процесі дослідження підбираються дози, визначаються найбільш спійнятні шляхи введення, проводяться спостереження за фізичним станом тварин. В кінці дослідження тварин забивають і проводять патоморфологічні дослідження.

Результати вносяться у звіт про дослідження специфічної ефективності потенційного лікарського засобу у порівнянні з відомим аналогом.

**Загальний звіт** доклінічного дослідження потенційного лікарського засобу містить:

а) дослідження гострої токсичності та токсичності при повторних введеннях;

б) дослідження кумулятивних властивостей, імунотоксичності, ембріотоксичності, гонадотоксичності, мутагенних та канцерогенних властивостей;

в) дослідження специфічної ефективності потенційного лікарського засобу у порівнянні з відомим аналогом;

г) рекомендації з вибору дози потенційного лікарського засобу для проведення I фази клінічних випробувань.

Незалежно від того, ким і де була відкрита нова фармакологічна речовина, вона повинен пройти доклінічні дослідження. Доклінічні дослідження зазвичай продовжуються від 1 до 3 років. Довготривалим є вивчення фармакологічного засобу на тваринах в дослідженні канцерогенності. Негативний результат одержаний в доклінічних дослідженнях вимагає безумовної призупинки подальшої клінічної розробки лікарського засобу.

### **Контрольні запитання**

1. Які існують моделі оцінки фармакологічної дії потенційних лікарських засобів?
2. Які завдання дослідження загально токсичної дії лікарських засобів?
3. Як вивчається гостра токсичність потенційних лікарських засобів?
4. Проведення до клінічних досліджень за правилами GLP.
5. Як вивчається токсичність потенційних лікарських засобів при повторних введеннях?

## **6. КЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

### **6.1 Історія становлення сучасних правил клінічних досліджень**

Ще в III столітті до нашої ери Птоломей наполягав, щоб при випробуванні нових ліків на злочинцях у них отримували дозвіл на проведення таких випробувань.

Історія становлення клінічних випробувань почалася в XVIII столітті. Опис випробування, яке можна назвати клінічним, вперше було опубліковано в 1753 році і називалося “Трактат про цингу”. Англійський дослідник Лінд описує, як він вибрав 12 пацієнтів з хворих, що знаходилися на кораблі і призначив 2 з них - по кварти сидру, 2- по 25 крапель купоросу, 2- 2 ложки оцету, 2- курс морської води, 2- одержували в в день по 2 апельсини та 1 лимону, ще 2 – мускатний горіх. Самий швидкий ефект був одержаний у тих пацієнтів, що з’їдали апельсини та лимон кожен день.

Перші наукові дослідження в області медицини виглядали як спостереження, накопичення фактів та їх систематизація. Далі, для узагальнення накопичених фактів почали застосовувати математичні методи. В XX столітті були введені принципи рандомізації. *Рандомізація* – змішування, урівнювання імовірних ознак. Принцип рандомізації ґрунтується на виборі випадкових номерів з популяції тварин (при доклінічних дослідженнях) або людей (при клінічних дослідженнях). Також було введено поняття “сліпого” або “замаскованого дослідження” –

пацієнтам не говорили, яку ін'єкцію вони одержують – чи лікарський препарат, чи дистильовану воду.

Перший міжнародний кодекс етики, що відноситься до медичних експериментів за участю людей був створений після розкриття злочину німецьких лікарів, які під час II Світової війни проводили медичні експерименти на в'язнях концентраційних таборів. Ці зловживання були засуджені Нюрберзьким трибуналом в 1947 році.

У 1964 році Всесвітня медична асоціація прийняла першу Хельсінську декларацію, яка включала вимоги до лікарів, що беруть участь в експериментальних та клінічних дослідженнях.

Сучасні вимоги до проведення клінічних випробувань ЛЗ дуже суворо слідкують за додержанням прав людей, що приймають участь в клінічному дослідженні та у відношенні довіри до результатів дослідження.

Розвиток фармацевтичної промисловості на початку XX століття показав, що крім інцидентів з порушенням прав людей, які приймали участь в клінічних дослідженнях, існує проблема вірогідності одержаних результатів. У цей час показники клінічних досліджень оцінювалися некритично, в основному, базуючись на спостереженнях окремих спеціалістів.

У 1935 році в клінічну практику були введені сульфаніламідні препарати, які стали першими ефективними ліками проти інфекційних захворювань. В 1937 році американська компанія вирішила випустити дитячу форму препарату у вигляді сиропу. Оскільки сульфаніламід погано розчиняється у звичайних харчових розчинниках, використали диетиленгліколь. Токсичність на тваринах не вивчалась, дослідження в клініці також не були проведені. До FDA (Food and Drug Administration - Управління з контролю за якістю харчових продуктів та медикаментів США) зі штату Оклахома поступило повідомлення про смерть 8 дітей та 1 дорослого пацієнта після вживання цього препарату. Швидко були запроваджені міри щодо видалення препарату з аптечної мережі, але 107 людей, в основному діти, померли. Цей факт привів до того, що Конгрес США в 1938 році прийняв закон про харчові продукти, лікарські та косметичні засоби. У відповідності з цим документом, ні один лікарський засіб не може поступити в продаж без дозволу FDA. Цей закон діє в США до нашого часу.

Ще більш страшна трагедія розігралася в сучасній лікарській терапевтичній практиці в 1959-1961 роках із застосуванням нового, на той час, лікарського засобу талідомід, який був рекомендований як анальгетик. У ФРН, а потім і в інших країнах, виник спалах рідкісного генетичного захворювання, яке називається фокомелія (“тюленьчі кінцівки”) – аномалія внутрішньоутробного розвитку, яка визначається дефектом росту трубчастих кісток (на руках та ногах людей) і в цих випадках формуються аномальні або рудиментарні кисті рук та стопи, розташовані відразу біля торсу. Тобто, ноги та руки складаються тільки з стоп та долоней. Одночасно проявлялися і деякі інші аномалії розвитку. Дослідження довели зв'язок народження таких дітей

з прийомом талідаміду під час вагітності жінок. Організовані спостереження за вагітними жінками, що приймали талідомід, показали, що багато таких дітей померло, але багато з них залишилися жити з деформацією кінцівок, очей, ушних раковин. В ФРГ було зареєстровано 10000 таких дітей, з яких 5000 вижили. Всього у світі нараховується 10000 таких хворих.

Катастрофа з талідомідом показала, що виробництво та застосування лікарських засобів повинно знаходитися під суворим контролем держави. Вивчення ефективності та безпечності нових лікарських засобів повинно проходити стандартизовано та неупереджено, основуючись на об'єктивних спостереженнях, а не особистих враженнях окремих, нехай навіть провідних у своїй галузі, спеціалістів.

Розробка та вивчення нових ЛЗ неможливі без їх наукових досліджень на людях. При цьому необхідно вирішити два завдання:

- одержати вірогідні дані про ефективність та безпечність лікарського засобу у людей;
- при проведенні клінічних досліджень необхідно дотримуватися етичних правил, а саме: не піддавати учасників медичного експерименту зайвому ризику, наслідуючи старовинну лікарську заповідь “не зашкодь”!

## **6.2 Проведення клінічних досліджень у відповідності до Правил GCP у країнах Європейського Співтовариства**

В 60-і роки в багатьох країнах Європи були прийняті закони, згідно яких був установлений обов'язковий державний контроль за продажем лікарських засобів. В США під егідою FDA (Food Drug Administration) був розроблений і прийнятий закон, який визначив правила проведення клінічних досліджень медичних препаратів. В 1977 році FDA запропонувала ввести правила, що визначають обов'язки дослідників лікарських засобів. Розроблена система називалася GCP – Good Clinical Practice. В 1986-1990 роках ряд європейських країн (Велика Британія, Ірландія, Німеччина, Франція, Іспанія), а пізніше Австралія та Японія прийняли правила дослідження лікарських засобів, що базувалися на принципах GCP.

Британська асоціація фармацевтичної індустрії назвала свої правила Good Clinical Research Practice – Належна практика клінічних досліджень, що є більш точною назвою.

В наш час нові лікарські засоби, незалежно в якій країні вони розроблені, повинні оцінюватися на основі адекватних фармацевтичних та біологічних даних досліджень, що проводяться з дотриманням уніфікованих вимог. На впровадження вимог GCP було витрачено багато часу. Зараз правила GCP розцінюються як необхідна умова проведення клінічних випробувань у більшості розвинутих країн світу.

### **6.3 Впровадження GCP в Україні**

Впровадження GCP на Україні почалося в 1995 році. В складі Фармакологічного Центру при МОЗ України було створено підрозділ, що займався питаннями клінічних випробувань. В 1995-1999 роках були розроблені методичні рекомендації для проведення клінічних випробувань лікарських засобів. Впровадження вимог цих рекомендацій дало можливість поступово покращити якість клінічних випробувань. Проведені консультації, семінари, перевірки умов проведення клінічних досліджень дозволили в значній мірі підготувати базу для впровадження цих вимог. В 2000 році в МОЗ України було затверджено Інструкцію про проведення клінічних досліджень лікарських засобів та експертизу матеріалів клінічних досліджень. Цей документ стверджує, що якісні клінічні дослідження – це дослідження проведені згідно правил GCP. Основні вимоги до проведення клінічних випробувань викладені в “Інструкції проведення клінічних випробувань та експертизи матеріалів клінічних випробувань”, яка затверджена Наказом МОЗ України №234 від 01.11.2000 року.

У Росії “Правила проведения качественных клинических испытаний В Российской Федерации (GCP) как стандарт отрасли” введені з 01.01.1999 року.

### **6.4 Проведення клінічних досліджень**

Клінічні випробування плануються на підставі медичних і медико-біологічних показників, одержаних при проведенні доклінічних досліджень, що забезпечує ефективність і безпечність ЛЗ. Послідовність проведення клінічних досліджень має свою логіку і визначається планом розробки лікарського засобу, який складається до початку I фази клінічних досліджень. Для його підготовки рекомендується залучати досвідчених лікарів – клініцистів-фармакологів, а також інших спеціалістів.

Перед початком клінічних досліджень до Фармакологічного центру при МОЗ України повинна бути представлена наступна інформація:

1. Опис процесу синтезу, включаючи дані щодо структури та чистоти препарату;
2. Фармакологічний профіль лікарського засобу, його фармакокінетичні характеристики і дані біологічної активності, перспективи використання;
3. Результати гострої та хронічної токсичності не менш ніж на 2 видах експериментальних тварин обох статей. Ці дані повинні бути одержані при вивчення токсичності протягом 2-12 тижнів щоденного введення в дозі адекватній тій, що передбачається для людей;
4. Характер, виявлення та тривалість фармакологічної дії;
5. Частота та ступінь тяжкості побічних ефектів;
6. Оборотноість ефектів;
7. Дозозалежність ефектів.

Плануючи клінічні дослідження, важливо чітко представляти задачі, які повинні бути виконані на кожному його етапі з урахуванням етапів розробки, області припустимого застосування, особливості захворювання, для лікування якого призначений даний лікарський засіб, можливості отримання найбільш достовірного результату.

До проведення клінічних досліджень нового лікарського засобу можна приступати в тому випадку, коли виконуються наступні вимоги:

- представлена інформація доклінічних випробувань показує, що даний лікарський засіб може бути застосований для лікування;
- клінічні випробування адекватно сплановані і можуть забезпечити інформацію про ефективність та безпечність лікарського засобу;
- є підстави вважати, що лікарська речовина достатньо безпечна для початку випробувань на людях;
- клінічні випробування, що плануються, не наражають людей, що беруть участь в випробуванні, на непотрібний ризик.

За наявності такої інформації Фармакологічний Центр при МОЗ України дозволяє почати випробування нового лікарського засобу на людях.

Загально визнано, що програма дослідження нового лікарського засобу на людях складається з 4 фаз випробувань. Перші 3 фази проводяться до реєстрації лікарського засобу. Четверта фаза носить назву постреєстраційної і проводиться після того як препарат дозволений до медичного застосування.

#### ***6.4.1 Перша фаза клінічних досліджень***

I фаза клінічних випробувань – це перший крок тестування нового лікарського засобу на людях. Звичайно, на цьому етапі випробування проходить на здорових-добровольцях чоловіках. Такі дослідження часто називаються не терапевтичними, медико-біологічними або клініко-фармакологічними, оскільки вони проектуються, щоб визначити переносимість, безпечність, наявність терапевтичної дії, фармакокінетичні та фармакодинамічні характеристики. Інколи вони дають первинні показники ефективності на людях.

*Завдання I фази:*

- одержати попередні дані безпечності (переносимості) препарату у людей;
- одержати перші показники фармакодинаміки та фармакокінетики у людей.

Проведення випробувань на I фазі триває від 6 місяців до 1 року. В них приймає участь 80-100 здорових добровольців, за якими в ході дослідження ведуться клінічні спостереження. Виключенням є випробування протипухлинних лікарських засобів, які проводяться на онкологічних хворих, а також лікарські засоби для лікування СНІДу, що пов'язано з високою токсичністю цих груп препаратів. Такі лікарські засоби досліджуються на хворих з відповідною патологією.

В середньому, на I фазі клінічних випробувань відсівається 1/3 всіх фармакологічних речовин, що пропонуються, через їх погану переносимість та погану абсорбцію. Тому головне завдання цього етапу – вирішити чи є сенс продовжувати подальшу роботу над цим препаратом та, якщо можливо, встановити дози, які будуть використані під час II фази клінічних випробувань.

Як правило, перші дослідження проводяться на здорових добровольцях – молодих чоловіках. Спочатку вивчається переносимість, фармакокінетика та фармакодинаміка однократної мінімальної дози. Часто дози та схеми введення, запропоновані для I фази на основі доклінічних досліджень, підлягають значній корекції через розбіжності всмоктування, розподілу, метаболізму та екскреції у людей та різних видів тварин. Наприклад на собаках на можна проводити доклінічні дослідження таблетованих лікарських форм. Тому що час виведення у хижаків знічно більший ніж у людей. Найбільша нетоксична доза, одержана на тваринах, використовується для розрахунку стартової дози ранніх досліджень I фази. Крім того, дослідження на тваринах дають цінну інформацію, пов'язану з проявами токсичності ще до початку випробувань на людях.

Якщо мінімальна однократна доза виявляється безпечною для людей, дослідження можна повторити використовуючи прогресивне збільшення дози. При цьому оцінюється їх переносимість та безпечність. Інформацію про фармакокінетику та фармакодинаміку потенційного лікарського засобу необхідно одержувати по кожній дозі, при кожному шляху введення.

Випробування більших доз лікарського засобу виявляє дозозалежне збільшення токсичності. Однак в цих дослідженнях можна виявити тільки побічні ефекти. Негативну побічну реакцію важко виявити на цій стадії дослідження через малочисельність досліджуваних груп та короткотривале введення препарату.

Вивчення фармакокінетичних параметрів має особливе значення, якщо відомий взаємозв'язок між рівнем концентрації фармакологічної речовини в крові та клінічним ефектом. Для цього вивчається кореляція між дозою та концентрацією речовини в крові, визначається характер залежності (лінійний чи нелінійний).

На I фазі необхідно виявити вплив лікарської речовини на різні системи та органи людського організму, а також визначити біохімічні та фізіологічні показники, за якими необхідно вести спостереження впродовж всього клінічного випробування.

Фармакодинамічні спостереження можуть показати різну направленість дії лікарського засобу, але його застосування для лікування конкретного захворювання на цьому етапі розробки ще не встановлюється, тому що препарати можуть діяти по-різному на здорових добровольців і на хворих пацієнтів.

Після проведення дослідження на здорових добровольцях, коли доведена безпечність лікарської речовини, планується визначення фармакокінетичних показників у хворих з порушеннями функції нирок,



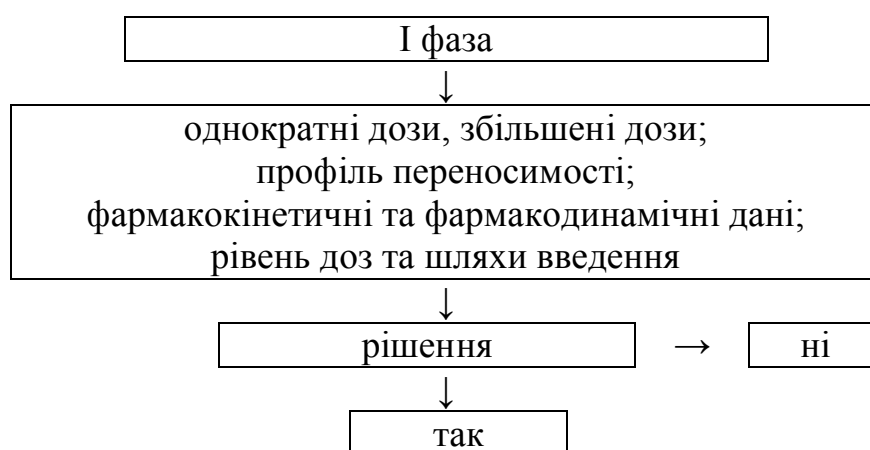
печінки та іншими хронічними патологічними станами. Обговорюється питання вивчення показників фармакодинаміки у дітей та вагітних жінок у зв'язку з можливими відмінностями у них розподілення, всмоктування, метаболізму та екскреції. Важливою є оцінка взаємодії потенційного лікарського засобу з іншими лікарськими засобами, зв'язок з часом приймання їжі (до чи після).

На I фазі клінічного дослідження лікарського засобу оцінюються такі характеристики:

- переносимість та безпечність;
- вплив на основні фізіологічні показники;
- визначення константи швидкості елімінації, абсорбції та екскреції;
- максимально допустима концентрація в сироватці крові;
- необхідний час для досягнення максимальної концентрації;
- можливий метаболізм та взаємодія;
- період напіввиведення лікарського засобу;
- фармакокінетичні та фармакодинамічні показники;
- зв'язок з білками крові;
- порівняння дозування з запропонованою лікарською формою;
- фармакологічна активність.

Велика увага приділяється показникам рівня якості життя. На I фазі клінічних випробувань починається визначення вірогідних критеріїв оцінки цих показників з врахуванням захворювання, для лікування якого призначено лікарський препарат.

### **СХЕМА ДОСЛІДЖЕНЬ I ФАЗИ**



Таким чином, у результаті клінічних досліджень I фази, визначається можливість продовження подальших досліджень лікарського засобу.

### **6.4.2 Друга фаза клінічних досліджень**

У II фазі клінічних випробувань оцінюються фактори схожі з тими, що досліджувалися на I фазі, але на пацієнтах з патологією для якої цей лікарський засіб пропонується.

Головною метою II фази є:

- доведення клінічної ефективності лікарського засобу при випробуванні на групі пацієнтів з патологією, для якої призначається лікарський засіб;
- визначення терапевтичного рівня дозування лікарського засобу.

Звичайно, в II фазі клінічних випробувань бере участь 200-600 пацієнтів з захворюванням для якого розробляється даний лікарський засіб (лікування, попередження, діагностика патології).

Під час проведення II фази випробувань ведеться спостереження можливої токсичності препарату, що досліджується, та позитивної дії його застосування. Додатково, на II фазі клінічних досліджень визначається мінімальна доза лікарського засобу зі збереженням рівня його ефективності, а також максимальна доза з найбільшою ефективністю без значних токсичних впливів на організм пацієнта.

При проведенні II фази клінічних випробувань повинні бути витримані наступні умови:

- наявність контрольної групи пацієнтів, що не відрізняється по кількості і складу від дослідної групи;
- хворі пацієнти дослідної та контрольної груп повинні бути однаковими по статі, віку, рівню попереднього лікування (його бажано припинити за 2-4 тижні до початку випробувань);
- розподіл пацієнтів на групи проводиться з застосуванням рандомізації (шляхом випадкового вибору).

### **6.4.3 Третя фаза клінічних досліджень**

На III фазі клінічних досліджень лікарського засобу використовуються більші та різного типу групи пацієнтів. В III фазі звичайно приймають участь тисячі пацієнтів. Останнім часом кількість пацієнтів, що приймають участь в III фазі клінічних досліджень може становити більше 10000. Такі випробування максимально наближені до звичайних умов застосування лікарського засобу.

III фаза клінічних досліджень являє собою чітко контрольоване дослідження, зплановане з метою оцінки безпечності та ефективності лікарського засобу в умовах, наближених до його використання у випадку дозволу до медичного застосування.

Клінічні випробування III фази плануються таким чином, щоб оцінити безпечність та ефективність лікарського засобу, дозування якого визначається терапевтичними цілями, на розширених та різних групах пацієнтів. Таке дослідження є плацебоконтрольованим. Часто проводять

порівняльне дослідження з курсом лікування відомими стандартними препаратами. В ході III фази випробувань вивчається взаємодія лікарських засобів, вплив віку, супутніх захворювань і т.д.

Інформація про результати досліджень III фази є основою для прийняття рішення про реєстрацію лікарського засобу та можливість його застосування в клініці. Рекомендація до клінічного застосування вважається обґрунтованою, якщо новий препарат:

- більш ефективний, ніж відомі препарати аналогічної дії;
- краще переноситься пацієнтами, ніж відомі препарати при однаковій ефективності;
- ефективний в тих випадках, коли лікування відомими препаратами не дає результатів;
- має більш зручну лікарську форму;
- при застосування у складі комбінованої терапії підвищує ефективність уже існуючих лікарських засобів не збільшуючи їх токсичності.

Практика показала, що з лікарських засобів, які одержали дозвіл на розробку, тільки 8% одержує допуск до медичного застосування.

#### ***6.4.4 Четверта фаза клінічних досліджень***

Клінічні випробування IV фази, проведені після того як лікарський препарат одержав дозвіл до медичного застосування, часто називаються постмаркетинговими дослідженнями. Ця фаза випробувань включає дослідження, що проводяться з метою одержання більше детальної інформації про безпечність та ефективність препарату.

IV фаза клінічних досліджень може бути використана для оцінки наступних даних:

- удосконалення схем дозування лікарського засобу;
- випробування різних термінів лікування;
- взаємодія з компонентами їжі та іншими лікарськими засобами;
- порівняльний аналіз з іншими стандартними курсами лікування;
- випробування на додаткових вікових групах або пацієнтах іншого типу;
- одержання додаткових даних, що відносяться до економічних показників;
- вивчення впливу віддаленого ефекту дії препарату на виживання пацієнтів;
- довготривале застосування у різних групах пацієнтів;
- випробування за новим призначенням.

Таким чином, поява нового лікарського засобу на ринку є кінцевим результатом довгого та складного процесу. Рішення про можливість медичного застосування лікарського засобу може бути прийняте тільки на основі достатнього об'єму інформації, яка доводить його ефективність та безпечність, одержаної при проведенні I, II та III фаз клінічних досліджень.

## 6.5 Контроль клінічних досліджень

Кожне клінічне випробування передбачає наявність контрольної групи пацієнтів і називається контрольованим. Контрольна група пацієнтів замість лікарського препарату одержує плацебо.

Плацебо це нейтральна (індиферентна) речовина, що використовується при оцінці дії препарату. Плацебо виготовляється так, щоб по зовнішньому вигляду, лікарській формі, кольору, розміру, смаку, запаху воно не відрізнялося від досліджуваного препарату. Вираховується плацебо-ефект, який може складати до 30% пацієнтів, властивий багатьом групам препаратів, при якому можливе спонтанне, без лікування, покращення стану хворого при деяких захворюваннях.

Плацебо в якості контролю застосовується, якщо:

- не існує стандартної схеми терапії захворювання, з якою можна порівняти новий препарат;
- плацебо є досить ефективним при лікуванні деяких захворювань або станів пацієнта (в деяких випадках ефективність лікування плацебо може становити 30% хворих пацієнтів);
- захворювання має легкий стан, а відсутність лікування - нетривалий час, протягом якого ніщо не загрожує якості життя пацієнта.

При проведенні випробувань важливим є *вплив психологічного фактору на результат*. Наприклад, при розподілі пацієнтів на групи, лікар може призначити пацієнтам в більш тяжкому стані лікування якому він більше довіряє. Такий підхід може мати вплив на вірогідність кінцевого результату дослідження. Для уникнення подібних помилок застосовується “сліпий” метод проведення дослідження. Сліпий метод може бути:

- “простий сліпий” метод – пацієнт не знає яке лікування йому призначили;

- “подвійний сліпий” метод – ні пацієнт ні лікар не знає про призначене лікування;

- “потрійний сліпий” метод – коли пацієнт, лікар та лікар, що оцінює та узагальнює одержані результати, не знають про лікування, яке призначене пацієнту (знає тільки спонсор).

Застосування “сліпих методів” підвищує вірогідність результатів клінічних випробувань і ліквідує вплив суб'єктивних факторів.

## 6.6 Дослідження біоеквівалентності

В клінічній практиці давно відомо, що препарати, які мають однакову діючу речовину, лікарську форму та дозування, але випускаються різними фірмами-виробниками, можуть відрізнятися за терапевтичною ефективністю, частотою виникнення та вираженості побічної негативної дії. Однією з найважливіших причин такої різниці є біодоступність лікарської (діючої) речовини з лікарської форми, тобто період дії та ступінь всмоктування.

Вивчення біодоступності лікарського засобу є одним з видів клінічних випробувань. Біодоступність – це швидкість накопичення ЛЗ або ступінь накопичення в місці його можливої дії. Для визначення біодоступності вимірюють концентрацію активної речовини в крові, сироватці або плазмі крові. Відмінності в швидкості всмоктування інгредієнтів, що входять до складу препарату в лікарських засобах вироблених різними фірмами-виробниками може привести до того, що в організм хворого поступить більша або менша кількість лікарської речовини, а це в свою чергу може привести до недоліків в лікуванні, небажаним наслідкам або побічній реакції.

Мета вивчення біодоступності – *порівняльна оцінка ефективності та безпечності двох лікарських засобів різних фірм-виробників, що мають однакову діючу речовину, в однакових умовах та дозах.*

Дослідження біоеквівалентності проводиться на здорових добровольцях чоловіках та жінках віком 18-55 років, масою тіла, що не виходить за межі вікових норм. Бажано, щоб учасники дослідження були некурящими. Згідно Хельсінської конференції 2000 року, учасники дослідження повинні добровільно погодитися на участь в дослідженні. У випадку дослідження лікарських препаратів для лікування онкологічних захворювань та ВІЧ-інфекцій рекомендується залучати хворих пацієнтів, через значну токсичність даних препаратів, що загрожує здоров'ю учасників.

## **6.7 Багатоцентрові клінічні дослідження**

Багатоцентрові клінічні дослідження це дослідження, які проводяться в кількох клінічних установах за одним Протоколом дослідження. Залучення кількох дослідницьких колективів, що використовують одні методи та процедури випробувань дозволяє легше та швидше зібрати дані для централізованого аналізу.

*Мета багатоцентрових клінічних досліджень – дослідження ефективності лікарського засобу на великій кількості пацієнтів, що живуть в різних країнах, перебувають в різних соціальних та екологічних умовах проживання.*

Великі багатоцентрові дослідження об'єднують десятки центрів і продовжуються багато років. Невеликі багатоцентрові дослідження включають 2-3 центри і продовжуються менше року.

Особливо важливим є проведення багатоцентрових випробувань, коли одна клінічна установа не в змозі набрати необхідну кількість пацієнтів, які необхідні за критеріями включення до даного виду випробувань. Це, частіше всього, може бути у випадку рідкісних захворювань.

## **6.8 Обов'язки Спонсора клінічних досліджень та Дослідника**

Організація та проведення клінічних випробувань ЛЗ складний та довготривалий процес, який передбачає активну участь Спонсора (Замовника), Дослідників (лікарів різних спеціальностей), Етичних комітетів,

офіційних інстанцій та пацієнтів або добровольців. Для якісного проведення клінічних досліджень важливою є взаємодія всіх учасників і чітке розподілення відповідальності та повноважень. Всі учасники дослідження повинні керуватися принципами GCP, Хельсинською Декларацією Всесвітньої Медичинської Асоціації та національним законодавством країни, що проводить дослідження. На всіх етапах підготовки та проведення дослідження Спонсор керується Стандартними операційними процедурами, що розроблені для всіх етапів клінічного випробування, включаючи вибір клінічної бази і учасників дослідження.

Згідно вимог GCP при проведенні клінічного дослідження за якість досліджуваного ЛЗ відповідає Спонсор, який гарантує стабільність ЛЗ протягом всього періоду випробування.

Досліджувані лікарські засоби (включаючи препарат порівняння та плацебо) повинні бути виготовлені у відповідності з правилами GMP (Good manufacturing practice – Якісна виробнича практика) і повністю відповідати своїм характеристикам. При необхідності, досліджуваний ЛЗ кодується та маркується з врахуванням можливості проведення “сліпого” клінічного дослідження.

В Україні здійснюється поступовий перехід фармацевтичної промисловості до виробництва лікарських засобів у відповідності з вимогами GMP ЄС та ВООЗ, що пов'язано з можливістю реалізації фармацевтичними підприємствами України своєї продукції на ринках ЄС та країн, що належать до Системи сертифікації лікарських засобів для міжнародної торгівлі, розроблену ВООЗ.

## **6.9 Контроль якості проведення клінічних досліджень**

Гарантія якості клінічних випробувань – це комплекс планомірних та систематичних заходів, що забезпечують контроль за дотриманням правил Належної клінічної практики (GCP) та діючих нормативних вимог до контролю за проведенням клінічних випробувань, збору даних, документального оформлення результатів дослідження. Гарантія якості клінічних випробувань забезпечується проведенням моніторингу та аудиту (з боку Замовника) та інспекцій (з боку Держави). Група контролю якості проведення досліджень створюється за ініціативою Замовника цих досліджень.

*Моніторинг* – це систематичний контроль за ходом клінічного дослідження, що проводиться Замовником.

*Аудит* – незалежна вибіркова перевірка в ході клінічного випробування, що проводиться аудитором (представником Замовника або організацією, яка не бере участі в клінічному випробуванні).

*Інспекція* – перевірка клінічного випробування, яку проводять регуляторні органи для підтвердження відповідності дослідження вимогам Протоколу дослідження. В Україні таким органом є Державний Фармакологічний Центр МОЗ України.

## 6.10 Оцінка безпечності та переносимості лікарського засобу

Дія ліків поділяється на *фармакотерапевтичну* і *негативну*. Перша визначає, на яку ланку захворювання (причину, патогенез, симптоми) діють ліки, друга використовується для характеристики безпечного застосування препаратів.

Розрізняють ще *головну* і *побічну* дії ліків. Головна - це бажана дія, її називають ще позитивною дією. Побічна (негативна дія), як правило, не потрібна для досягнення мети терапії і перешкоджає головній дії.

Дослідження безпечності та переносимості ЛЗ є значною проблемою. Клінічних випробувань недостатньо для виявлення побічної дії лікування досліджуванім лікарським засобом, хоча деяку специфічну побічну дію будь-якого лікарського засобу можна передбачити, діапазон можливих побічних ефектів дуже широкий і завжди можливі нові, непередбачувані реакції. Впровадження в медичну практику великої кількості лікарських засобів з високою біологічною активністю супроводжується з одного боку зростанням застосування цих лікарських засобів, а з іншого боку - збільшенням випадків виникнення різних по характеру випадків побічної дії та ускладнень фармакотерапії.

Дані ВООЗ свідчать, що негативна побічна дія виникає у випадках госпіталізованих хворих – 0,4-20%, а в слаборозвинених країнах 30-40%. Серед хворих, що поступають на лікування в стаціонар, від 2,5 до 28% - це пацієнти з проявами побічної дії лікарських засобів. Летальні випадки від негативної побічної дії лікарських засобів займають 5 місце у світі після серцево-судинних захворювань, захворювань легень, онкологічних захворювань та травм.

Фактори, що впливають на виникнення негативної побічної дії лікарських засобів:

- особливості організму хворого (вік, стать, генетичні особливості, схильність до алергічних реакцій, шкідливі звички);
- неадекватна клінічна оцінка стану хворого (невірно встановлений діагноз);
- передозування;
- відсутність контролю за тривалістю фармакотерапії;
- зміни фармакокінетики та фармакодинаміки пов'язані з віковими категоріями населення (діти, люди середнього віку, люди літнього віку);
- взаємодія лікарських засобів.

### 6.10.1 Негативні види дії ліків

Дійсну частоту уражень здоров'я внаслідок застосування ЛЗ важко встановити. Вважають, що такі ураження зустрічаються приблизно у 10-15% хворих. Відомо близько 500 найменувань ліків, які викликають ураження печінки, стільки ж нирок, органів кровотворення. Але ускладнення лікарської терапії не мають чіткої номенклатури. Для визначення негативної дії ліків

застосовують такі терміни: лікарська хвороба, хвороба прогресу медицини, негативна, токсична, побічна, небажана дія ліків.

Основні негативні види дії ліків.

*Токсикологічна* побічна дія виникає при передозуванні лікарського засобу, що може бути результатом лікарської помилки або суїцидальної дії самого потерпілого.

Розрізняють негативні види дії ліків, пов'язані з:

- *фармакодинамікою* – ульцерогенна (прзиводить до виникнення виразок, напр. ібупрофен), гепатотоксична, нейротоксична, нефротоксична дія ліків (морфін пригнічує дихання, атропін викликає сухість у роті, саліцилати, стрептоміцини, гентаміцин викликають втрату слуху);

- *передозуванням* (часто виникає при ураженні печінки, нирок);

- *повторним* введенням (ейфорія, залежність, звикання, тахіфілаксія, абстиненція, кумуляція, алергія):

*Ейфорія* – підвищено хороший настрій, що поєднується з недостатньою критичною оцінкою свого стану та поведінки.

*Пристрасть* (залежність) характеризується непереборним бажанням регулярного вживання ліків. Пристрасть, як правило, виникає до ліків, які викликають ейфорію (наркотичні анальгетики).

*Звикання* (син. стійкість, толерантність, резистентність, виносливість) - стан, коли при повторному введенні ліків зменшується їх ефективність.

*Медикаментозна залежність* - систематичне повторне введення лікарського засобу робить його присутність в органах та тканинах організму постійною і обумовлює втягнення лікарської речовини в біохімічні процеси, що проходять в тканинах та органах. Механізм цього явища пов'язаний з систематичним введенням ліків, які залучаються до біохімічних процесів, що відбуваються в організмі. В результаті такої присутності змінюються функціональні особливості тканин та органів. До цих умов організм поступово адаптується, так як до низької або підвищеної температури, розрідженого повітря, підвищення тиску, особливостей харчування. Встановлюється рівновага. Створюється новий, відмінний від звичайного, метаболізм в організмі. Відміна лікарського засобу в такому випадку порушує рівновагу і розвивається хворобливий синдром “відміни” або абстиненція. Чим міцніша така залежність, тим глибший синдром абстиненції. *Синдром відміни* (загострення хвороби) розвивається при тривалому застосуванні і раптовій відміні трициклічних антидепресантів, нейролептиків, інсуліну, барбітуратів, кортикостероїдів, антикоагулянтів, клофеліну, блокаторів різних рецепторів. Щоб запобігти синдрому відміни, ці засоби відмінюють поступово.

*Кумуляція* (лат. simulatio - нагромадження) викликається накопиченням в організмі активної речовини (матеріальна кумуляція) або сумацією її ефектів (функціональна кумуляція). Інколи явище кумуляції використовують, щоб досягти належного терапевтичного ефекту лікарських речовин (антибіотиків, серцевих глікозидів). Кумуляція найчастіше має не терапевтичне, а токсикологічне значення. Особливо легко інтоксикація лікарськими



речовинами при кумуляції виникає коли недостатність функції печінки та нирок.

*Лікарська алергія* - неспецифічна побічна дія лікарського засобу. Це комплекс алергічних реакцій організму негайної або уповільненої дії. Клінічні прояви медикаментозної алергії не мають прямого зв'язку з структурою речовини. Причина медикаментозної алергії в процесах сенсibilізації організму лікарською речовиною (*сенсibilізація* – це набуття організмом специфічної підвищеної чутливості до впливу якої-небудь речовини або фактору навколишнього середовища. Підрозділяють сенсibilізацію на *активну* – при попаданні алергену (антигену) в організм і *пасивну* – введення в інтактний організм сироватки крові від сенсibilізованого донора). Алергічна реакція може бути негайною і відповідає алергічним реакціям негайного типу (анафілактичний шок – судоми гладкої мускулатури бронхів), набряк Квінке – набряк гортані, кропивниця, гемолітична криза – порушення стінки еритроцитів та виділення гемоглобіну в плазму крові, приступ бронхіальної астми. Найчастіше лікарська алергія виникає на 7-12 день від початку вживання препарату при повторному курсі терапії. Вона спостерігається у 15-30% осіб і різноманітна за своїм характером і тяжкістю: від легких проявів на шкірі до смертельного анафілактичного шоку.

Побічні явища, що виникають при застосуванні протимікробних засобів, особливо антибіотиків, спостерігаються дуже часто. Одним з найчастіших небажаних наслідків лікування антибіотиками є поява стійких патогенних мікроорганізмів і розвиток *дисбактеріозу* - порушення нормального співвідношення мікрофлори шкіри та слизових оболонок.

При комплексній фармакотерапії потрібно враховувати небезпечність поліпрагмазії (політерапії). Остання є однією з причин негативної дії ліків.

### **6.10.2 Перинатальна фармакологія**

Особливості впливу лікарських речовин на вагітних жінок (на розвиток плода від 24 тижнів до пологів і на новонародженого) вивчає спеціальний розділ фармакології - *перинатальна фармакологія*.

У цих випадках негативна побічна дія лікарських засобів викликає *ембріотоксичний, тератогенний та мутагенний* ефекти. Такий вплив лікарських засобів тісно пов'язаний один з одним і може виявлятися одночасно.

*Ембріотоксична дія* (рання загибель ембріона). Ембріотоксична дія розвивається у перші два тижні вагітності (від початку запліднення). Вона є наслідком токсичної загальноплазматичної дії (спочатку на запліднену яйцеклітину, а потім на ембріон). Внаслідок цього розвиток ембріона, процес імплантації (1-2 тижні) і плацентация (3-6 тижнів) порушуються, і вагітність не розвивається, настає аборт. Це відбувається при тривалому або у великих дозах вживанні ліків. Якщо ембріотоксична дія не закінчилася аборт, то це початок тератогенної дії. Ембріотоксичні властивості можуть виявляти протипухлинні, сечогінні засоби.

*Мутагенна дія* – спадково закріплена мутація, що виникає в результаті шкідливого впливу на хромосомний апарат полових клітин батьків. Поштовхом до вивчення такої дії у потенційних лікарських засобів була «талідамідна катастрофа», що була з препаратом талідамід. З того часу дослідження мутагенної дії лікарських засобів проводиться регулярно. Мутагенна дія (генетична) може виникнути від вживання ліків та інших хімічних засобів жінкою, а інколи і чоловіком, у період гонадогенезу і ембріогенезу. Мутагенні ефекти лікарських речовин є стійко закріпленими у біологічному відношенні.

Під *тератогенною дією* (від грец. teratos - потворність) розуміють здатність хімічних речовин викликати вади ембріонального розвитку, каліцтва. Аномалії розвитку плода або тератогенна дія розвивається з 3 до 10-го тижня вагітності. Тератогенна дія ліків характерна для антибіотиків, вітамінів А, Д, К, цитостатиків і інших ліків, які застосовуються у великих дозах тривалий час. В період ембріонального розвитку людей і тварин є критичні періоди, під час яких зовнішній вплив особливо легко викликає зміни та порушення морфогенезу (розвитку ембріона). В таких випадках може наступити загибель ембріону або виникають аномалії його розвитку. Критичні періоди ембріонального розвитку (імплантація 1-2 неділя, плацентажія 3-4 неділя, органогенез з 5-го тижня вагітності) характеризуються високою чутливістю клітин ембріона до дії зовнішніх факторів, лікарських засобів. Зовнішній токсичний вплив (алкоголізм, куріння, наркоманія, медикаментозна залежність), що співпадає з цими періодами може суттєво порушити розвиток та структуру клітин ембріона і створити передумови для мутацій розвитку плода.

*За ступенем небезпеки для ембріона* ЛЗ поділяють на три групи:

- з високим ступенем ризику тератогенного ефекту: цитостатичні, імунодепресанти, протипухлинні антибіотики, андрогени, талідомід;
- засоби з меншим тератогенним ефектом: протиепілептичні, сечогінні (діакарб), антидіабетичні (глібенкламід, гліпізид), непрямі антикоагулянти, спирт етиловий;
- засоби порівняно мало небезпечні для плода. Це велика кількість препаратів різних фармакологічних груп, які можуть приймати вагітні жінки.

Структурні і функціональні дефекти розвитку в період ембріогенезу виникають, як правило, в перші три місяці розвитку вагітності. Приблизно у 2-4% новонароджених відмічається явне та приховане каліцтво. Близько 76% цих каліцтв зумовлені вживанням ліків під час вагітності. Функціонально-структурні порушення формування органів плода під впливом ліків, що здатні проникати крізь плаценту, у III триместрі вагітності називають *фетотоксичним ефектом*.

*Гонадотоксичність* це порушення оваріально-менструальної функції, сперматогенезу та функціональної статевих клітин.

Наведені небажані наслідки, які витікають з негативної дії сучасних лікарських засобів, ні в якому разі не є аргументом проти фармакотерапії.

Умови їх виникнення слід добре знати і прагнути до їх максимального усунення.

### **6.11 Фармакологічний нагляд**

В умовах використання на ринку України біля 10000 зареєстрованих лікарських засобів важливою є проблема безпечного їх застосування та контролю за їх застосуванням. Для контролю за безпечним застосуванням лікарських засобів на Україні створений фармакологічний нагляд.

Завданням фармакологічного нагляду є покращення якості життя кожного хворого пацієнта.

З початку 60-х років у світі почали розроблятися та впроваджуватися різні методи контролю за безпечністю лікарських засобів. Створена програма ВООЗ з моніторингу - в ній приймає участь 30 країн, в 52 країнах створені національні центри, що співробітничать з ВООЗ в роботі за цією програмою.

До цієї програми приєдналися з 1968 року – Австралія, Англія, Німеччина, Данія, Ірландія, Канада, Нідерланди, Нова Зеландія, Швеція. З 1972 – Болгарія, Ізраїль, Індонезія, Італія, Норвегія, Польща, Румунія, Фінляндія, Японія. З 1984 року Іспанія, Таїланд, Турція, Франція. З 1997 року Росія, Марокко, Малайзія та інші країни.

На Україні вперше вивченням побічної дії лікарських засобів почали займатися з 1996 року в Центрі побічної дії ЛЗ у складі Фармакологічного комітету при МОЗ України. Його діяльність була направлена, в першу чергу, на аналіз власної інформації про побічні реакції, які були зареєстровані при проведенні клінічних досліджень на Україні. В грудні 2000 року Наказом МОЗ України (№347 від 19.12.2000) була затверджена «Інструкція про проведення нагляду за побічними реакціями/дією ЛЗ», а в лютому 2001 року вступив в силу Наказ МОЗ України (№51 від 08.02.2001) «Про організацію направлення інформації про побічну дію ЛЗ» та №52 від 08.02.2001 «Про внесення доповнень в п.5.1 Додатку 3 «Інструкції про проведення нагляду за побічними реакціями/дією ЛЗ». Дана «Інструкція...» установлює основні вимоги до зібрання даних, необхідних для нагляду за побічними реакціями ЛЗ при проведенні клінічних досліджень та медичному застосуванні ЛЗ. Згідно цих документів встановлений порядок надання інформації про побічну дію ЛЗ.

### **6.12 Етичні комітети**

Основні етичні та правові принципи сформульовані в Хельсинській декларації Всесвітньої медичної асоціації. Цей документ ліг в основу рекомендацій і законодавчих актів, що визначають права людини і етичні зобов'язання прийняті лікарями перед проведенням клінічних досліджень.

Клінічні дослідження за участю людей повинні відповідати загальноприйнятим науковим принципам і ґрунтуватися на адекватно

проведених доклінічних дослідженнях проведених на тваринах. Вони повинні проводитися кваліфікованим персоналом під спостереженням досвідченого лікаря. У всіх випадках відповідальність за пацієнта несе лікар. При будь-яких дослідженнях за участю людей, кожен потенційний учасник повинен бути відповідним чином проінформований щодо мети, методів, очікуваних результатів дослідження, а також щодо можливості відмовитися від участі в дослідженні. Перед початком дослідження лікар повинен одержати від пацієнта інформовану письмову згоду. Клінічне дослідження за участю людей не може проводитися, якщо ризик для пацієнта більший ніж важливість цілі експерименту.

В українському законодавстві правові та етичні питання при проведенні клінічних випробувань розглядаються в 7 та 8 статтях Закону України “Про ліки”.

Відповідно до Закону України “Про ліки” були розроблені та затверджені МОЗ України “Інструкція про проведення клінічних досліджень лікарських засобів та експертизи клінічних випробувань”, а також “Типове положення про комісії з питань етики”.

З метою забезпечення прав і безпеки учасників клінічного дослідження засновані незалежні етичні комітети. Етичні комітети – це незалежні організації, що складаються з професійних медиків та осіб немедичних спеціальностей, які несуть відповідальність за забезпечення захисту прав і здоров'я людей, що беруть участь в дослідженні і гарантують такий захист для всього суспільства.

Особливості діяльності Етичних комітетів:

- а) незалежність від сторін, що приймають участь у дослідженні;
- б) не переслідують комерційних або матеріальних інтересів;
- в) мають повноваження розглядати документи, що стосуються проведення клінічних випробувань;
- г) мають право вносити зміни та доповнення;
- д) ухвалюють рішення щодо можливості проведення клінічних випробувань
- е) контролюють проведення клінічних випробувань.

### **6.13 Реєстрація лікарських засобів на Україні**

З попередніх лекцій ми дізналися, що потенційний лікарський засіб це хімічна речовина, що має фармакологічну дію. На шляху перетворення потенційного лікарського засобу в лікарський засіб хімічна речовина проходить через кілька важливих етапів дослідження.

I етап. Виникнення ідеї створення нового лікарського засобу.

II етап. Синтез хімічної сполуки, що має фармакологічні властивості очікуваної дії.

III етап. Скринінг фармакологічної речовини на моделях *in vitro*.

IV етап. Скринінг фармакологічної речовини на тваринах (мишах).

V етап. Дослідження токсичності та специфічної активності речовини проведене на тваринах – доклінічне дослідження. Визначення фармакодинамічних та фармакокінетичних характеристик (всмоктування, метаболізм, виведення). Дослідження всіх видів токсичності, алергізуюча дія, вплив на репродуктивні органи. Фармакологія безпечності (вплив на серцево-судинну систему, центральну нервову систему та систему дихання).

VI етап. Клінічні дослідження (при позитивних висновках доклінічних досліджень) I фази на здорових-добровольцях.

VII етап. При позитивних висновках попередніх досліджень випробування в умовах клініки на хворих пацієнтах, що мають патологію для якої цей лікарський засіб рекомендований та інші захворювання (II і III фази клінічних досліджень). Результатом проведення клінічних досліджень є звіт і підготовка проекту Інструкції для медичного застосування лікарського засобу.

VIII етап. Документація про проведення доклінічних досліджень, клінічних досліджень, проект Інструкції для медичного застосування лікарського засобу, Аналітично-нормативна документація від виробника на технологічний процес виробництва лікарського засобу направляється до Державного фармакологічного центру при Міністерстві охорони здоров'я України для розгляду у відповідній комісії експертів. Затвердження та проведення процедури надання рекомендації до реєстрації проводиться на засіданні ДФЦ МОЗ України. Рекомендація до реєстрації направляється в МОЗ де затверджується. Після цього лікарський засіб поступає в продаж до аптек.

## **6.14 Поняття «якість життя»**

Вважається, що здоров'я людини залежить:

на 10% - від рівня розвитку медичних послуг;

на 20% - від генетичної інформації;

на 20% - відстану екології;

на 50% - від способу життя.

У наш час все більше уваги приділяють поняттю «якість життя», що є характеристикою фізичного, психологічного, емоційного та соціального функціонування хворої людини, оснований на його суб'єктивному світосприйнятті.

Поняття «якість життя» включає цілий ряд аспектів: фізичний (біль, здатність вільно рухатися); функціональний (здатність до самообслуговування та рівень побутової активності), психологічний (схильність до депресивного стану, збереження інтелекту, оцінка свого стану), соціальний (зміна соціальних контактів і взаємовідношень).

Якість життя змінюється в часі в залежності від широкого спектру ендогенних та екзогенних факторів. Показники якості життя дозволяють оцінювати фізичний та психологічний стан і, при необхідності, проводити корекцію відновлювального лікування та реабілітації. Оцінка якості життя,

зроблена самим хворим, є цінним і надійним показником його стану і разом з лікарняними висновки дозволяє скласти повну та об'єктивну картину хвороби.

### **Контрольні запитання**

1. Історія становлення правил клінічних досліджень.
2. Охарактеризуйте фази клінічних досліджень.
3. Як вивчається біоеквівалентність лікарських засобів?
4. Які види негативної дії ліків існують?
5. Що розуміють під поняттям «якість життя»?

## **7. НЕТРАДИЦІЙНІ МЕТОДИ В МЕДИЦИНІ**

### **7.1 Фармакологія в системі медичних та біологічних наук**

Біологічна наука, яка вивчає реакцію живих організмів на дію лікарських речовин, називається фармакологією. Назва науки походить від слова *pharmaki*, тобто “зцілюю”, яке написано на статуї древньоєгипетського бога місяця, рахунку та письма Тота.

При вивченні механізму дії лікарських засобів, фармакологія спирається на біологію, нормальну та патологічну анатомію, фізіологію, біохімію, мікробіологію та інші науки. Якщо біологія, нормальна анатомія та фізіологія вивчають здорові організми, патологічна анатомія та фізіологія вивчає організми, що мають функціональні порушення, тобто різні захворювання. Завданням фармакології є знаходження засобів направленої відновлення порушених функцій, лікування хворого органу або всього організму.

На ранніх етапах розвитку людства, коли людина одухотворяла природу і вважала, що існує матеріальне - тіло і нематеріальне - душа, лікування захворювань визначалося цими уявленнями. Заговори, заклинання, залякування, амулети – все було направлено на вигнання злих духів з тіла людини. З розвитком суспільства накопичилися знання про зв'язок людини з навколишнім середовищем, про вплив на організм людей та тварин різних продуктів мінерального, рослинного та тваринного походження.

Першим видатним представником наукової медицини був Гіпократ, який жив в 460-377 рр. до н.е. в Афінах. Він сказав слова, що не постаріли до наших днів: «Про те, що знаходиться під землею і над землею, можна тільки здогадуватися. Медицина шляхом досвіду привела до міцних здобутків. В цьому запорука її процвітання в майбутньому...». При цьому Гіпократ підкреслював залежність організму від зовнішніх умов: їжі, води, мінералів, рослин.

В епоху середньовіччя, яка продовжувалась більше 1000 років, в медицині господарювало вчення про божественну животворну силу всього на землі. Фармація стала наукою про вигнання з хворої людини злих духів за

допомогою ліків, разом з кровопусканнями, заклинаннями та астрологією. Однак, в таких умовах не переставали накопичуватися знання, які не міг зупинити навіть страх смерті на багатті. Хранителем знань античних греків та римлян у сфері медицини в той час вважалися араби. В Багдаді у 765 р. була відкрита перша у світі аптека, де спеціалісти готували лікарські засоби за рецептами лікарів. Видатний лікар давнини Авіценна (Абу Алі Ібн Сина, 980-1037 р.р.) в своєму “Каноні медицини” приводить сотні описів лікарських рослин, рецептуру приготування різних ліків.

В епоху Відродження виник інтерес до різних наук, мореплавання. Хрестові походи. Знайомство з арабською медициною сприяли розвитку медицини в Європі. У XII столітті в Карфагені, де існувала знаменита в той час медична школа, була відкрита перша аптека в Західній Європі. Право торгувати ліками було надане тільки людям, що склали спеціальний іспит.

Об’єктивне вивчення природних явищ породило цікавість великих мислителів, які відкинули застарілі поняття і намітили перспективи у розвитку науки медицини.

**Поняття про ліки.** Продукти рослинного, тваринного та мінерального походження застосовувались в якості лікарських засобів з давніх часів. Періоди віри в цілющу силу ліків змінювалися періодами розчарування.

Основою вчення про ліки стало положення біології про єдність організму і навколишнього середовища, в якому він знаходиться. Кожен організм для свого нормального розвитку та життєдіяльності вимагає певного комплексу речовин, які необхідні для побудови тіла. Зміна взаємозв’язку організму та навколишнього середовища супроводжується різними порушеннями. Якщо хвороба виникає внаслідок відсутності якоїсь речовини, в ролі ліків може виступати ця речовина. Наприклад, якщо вміст йоду в їжі зменшується, розвивається захворювання щитовидної залози, яке лікується додаванням йоду в сіль. Тобто один з факторів відсутніх в зовнішньому середовищі виступає в новій якості – стає ліками. Вітаміни в нормальних умовах надходять в організм як натуральні компоненти харчового раціону, а при авітамінозі їх вводять як ліки.

Різні порушення життєдіяльності організму можливі не тільки при розладнанні взаємозв’язку з зовнішнім середовищем, але і при зміні внутрішнього середовища. В таких випадках необхідно компенсувати недостачу цих компонентів штучним введенням їх в організм в якості лікарського засобу. Наприклад, при нестачі в крові інсуліну – гормону, який виробляється підшлунковою залозою, розвивається цукровий діабет. З метою компенсації цього порушення, в організм вводять інсулін, одержаний з підшлункової залози тварин.

Таким чином, ліками можна назвати будь-яку речовину мінерального, рослинного чи тваринного походження (а також одержану шляхом хімічного синтезу), яка може бути використана для ціленаправленого впливу на організм людини чи тварини з метою профілактики або лікування захворювання.

Під впливом лікарських речовин проходять зміни функціонального стану клітин організму, які називаються фармакологічним ефектом. Фармакологічна реакція в клітині визначається двома обставинами: молекули лікарської речовини повинні бути в призначеному для них місці і мати можливість утворювати хімічні зв'язки між молекулами при взаємодії.

Метаболізм (перетворення) лікарських речовин в організмі здійснюється за допомогою ферментативних реакцій. Дезактивація лікарських речовин проходить у ссавців, в основному, в печінці та нирках.

При оцінці фармакологічної дії лікарських речовин необхідно мати на увазі, що характер їх біологічної активності у кожному випадку визначається не тільки їх якістю, але і дозою. Лікарський засіб в залежності від дози може мати лікувальну або негативну дію. При порушенні дозування отруєння можливе не тільки сильнотоксичними лікарськими засобами, але і такими, що вважаються нешкідливими. Неправильне застосування лікарських препаратів може викликати негативну побічну дію, тобто захворювання більш тяжке ніж попереднє. Негативна побічна дія, названа лікарською хворобою, стала проблемою традиційної медицини.

**Нетрадиційні методи в медицині.** У зв'язку з ростом числа лікарських та алергічних захворювань, не завжди достатньою ефективністю фармакологічних лікарських засобів застосування нетрадиційних методів лікування значно зросло. Більше стала застосовуватися мануальна терапія, рефлексотерапія, фітотерапія, гомеопатія. Основною відмінністю нетрадиційних методів лікування є їх направлення на стимуляцію захистних систем організму.

Ці методи мають багато спільного:

по-перше, індивідуальний вплив;

по-друге, вплив на весь організм як єдину систему, урахування індивідуальних характеристик (аж до зовнішнього вигляду) організму при виборі тактики лікування.

## 7.2 Гомеопатія

Засновником нетрадиційного направлення в медицині – гомеопатії (homois - подібний; pathos - хвороба) вважається німецький лікар *Фрідріх Самуїл Ганеман* (1755-1843). Він був не тільки лікарем, а і хіміком, математиком, знав 8 мов. У 1810 р. він опублікував своє вчення, назване ним гомеопатією. Принципові положення свого вчення він виклав в роботах: “Новий спосіб дослідження цілющих властивостей ліків” (1796), “Органон лікарського мистецтва” (1810), “Чисте лікознавство”. Остання робота складається з 6 томів.

Гомеопатія базувалася на таких основних положеннях:

1. Закон подібності - подібне слід лікувати подібним. Наприклад, головний біль мав лікуватися ліками, які самі викликають головний біль. Цей закон став основним для практичної гомеопатичної терапії.



2. Для встановлення дії ліків потрібно дослідити їх дію у великих дозах на здорових людях і враховувати при цьому тільки відчуття хворого.

3. Використовувати гомеопатичні ліки необхідно в надзвичайно малих дозах, оскільки при такому їх застосуванні у більшій мірі визволяється лікувальна сила, що в них міститься.

Сучасні гомеопати використовують методи дослідження наукової медицини і застосовують малі, але достатні з точки зору гомеопатії, дози ліків порядку  $1:10^{-18}$  -  $1:10^{-10}$ .

Прошло біля 200 років з часу виникнення гомеопатії і відкриття “закону подібності”. Прихильники гомеопатії та представники аллопатичної медицини (allos – інший, pathos - хвороба) провели значну роботу для підтвердження цього закону, його експериментального обґрунтування. Тепер добре відомо, що існує багато лікарських засобів, які в великих дозах викликають симптоми характерні при захворюваннях, для яких вони рекомендовані.

У світовій науці існують різні теорії для пояснення законів подібності. Самуїл Ганеман вважав, що тканини хворої людини виявляють чутливість до лікарських засобів застосованих в малих гомеопатичних дозах. В наш час вважається, що малі дози ліків впливають на механізми фізіологічних процесів, ініціюючи біохімічні, фізико-хімічні, квантово-механічні реакції в тканинах організму.

Однак, вчення Ф.С.Ганемана не одержало б такого широкого розповсюдження, аби його учні і послідовники – Е.А.Фаррінгтон, К.Герінг, Н.Адлен, Л. Ванніер, К. Бенігаузен, Д.Кент, Д.В. Попов, Т.Д.Попова, Т.Я.Зеликман та інші не доповнили, не розширили та не поглибили основні положення гомеопатії. В своїх трудах ці вчені-гомеопати розвивають знання про приготування та способи дозування гомеопатичних лікарських засобів рослинного, тваринного і мінерального походження. Описана фізіологічна дія, особливості застосування, показання до застосування багатьох гомеопатичних лікарських засобів.

**Гомеопатичні лікарські засоби.** На різних етапах розвитку медичної науки, опираючись на досягнення фізіології, біохімії, фізхімії, біофізики, квантової фармакології, вчені намагалися порівняти вплив малих доз лікарського засобу з дією вітамінних, гормональних, ферментних препаратів. Дійсно, в медицині використовується велика кількість препаратів в низьких, практично гомеопатичних дозуваннях. Тільки малими дозами можливо пояснити вплив на організм людини ефірних масел, фітонцидів та інших фізіологічно активних речовин рослинного походження. В науковій літературі з фармакології є матеріали, що стосуються впливу малих доз лікарських речовин на організм або окремі органи. Таким чином, малі дози використовуються не тільки в гомеопатії, а і в практичній медицині.

Вчення про дози вимагає всебічних досліджень, оскільки наукова медицина не може відповісти на питання, чим визначається специфічність окремого лікарського засобу, чому саме така (кількість, концентрація) викликає терапевтичну, лікувальну або токсичну реакцію. В даний час тільки

незначна кількість лікарів-гомеопатів призначає препарати в великих розведеннях – більше 30, більшість лікарів-гомеопатів використовують середні (6,12) та низькі (3,2) розведення.

Друге положення гомеопатії за Ф.С.Ганеманом говорить про необхідність випробовувати гомеопатичні препарати в великих дозах на здорових людях, щоб визначити різні прояви (симптоми) їх токсичного впливу та встановити “патогенез ліків”. Для вивчення цього положення необхідні всебічні дослідження з використанням різних високоінформативних методів. В своїх працях С.Ганеман описав патогенез 62 препаратів.

Третє положення гомеопатії – ефективність малих доз гомеопатичних препаратів, застосовується при лікуванні хворих. За С.Ганеманом при розведенні лікарської речовини виникає наростання лікувальних ефектів препарату з виявленням особливих “прихованих сил” лікарського засобу. Можливо це положення вимагає експериментального та клінічного підтвердження з застосуванням сучасних методів.

Основний принцип медицини всіх часів і народів – лікувати не хворобу, а хворого знаходить втілення в гомеопатичних законах.

Першою і головною особливістю гомеопатії є індивідуальний підхід до лікування хворого з врахуванням його конституції, особливості професії, побуту, харчування, впливу навколишнього середовища.

Друга особливість – мінімальна кількість побічних реакцій при призначенні гомеопатичного лікарського засобу, оскільки застосовуються мінімальні дози препарату.

Третя особливість гомеопатії – можливість лікування певних захворювань, в основі яких лежать порушення функції нервової системи, обміну речовин, хронічні захворювання.

Четверта особливість – приготування гомеопатичних лікарських засобів є екологічно чистим процесом.

Таким чином, гомеопатія це важливий метод лікувального впливу на організм хворого. В гомеопатії, як і взагалі в медицині, є багато оригінального та не вивченого. Тому спільними зусиллями вчені та практикуючі лікарі продовжують вивчати гомеопатичні лікарські засоби.

**Хвороба з точки зору гомеопатії.** Гомеопатичне лікування направлене на лікування не хвороби, а хворого пацієнта. Лікар гомеопат цікавиться його відчуттями: слабкість, плаксивість, страх, гнів, апатія. В цих симптомах розкривається особистість хворого, його темперамент, індивідуальність. Такий підхід є характерною особливістю гомеопатичного лікування.

Все життя людини пов'язане з великою кількістю різних відчуттів, які вона може не помічати. Поява стійких, неприємних хворобливих відчуттів, які тривожать і заважають вказує на хворобу. Такі відчуття, що виникають в організмі на початку захворювання, поки що не поддаються лікуванню, але цього достатньо, щоб викликати подразнення відповідних рецепторів, що передають імпульс через нервові закінчення до головного мозку та центральної нервової системи організму. Така специфічна інформація

відрізняється від інших форм впливу. В гомеопатії таку інформацію здійснює лікарський засіб, який надходить в організм в дуже малих дозах. В одній сахарній крупинці з розведенням  $10^{-6}$  міститься інформація, яка викликає подразнення нервових рецепторів хворого організму. В рецепторах виникають нервові імпульси, що передають інформацію до головного мозку про хворобу. Ця інформація викликає збудження відповідного центру головного мозку і він, у відповідь, посилає команду нормалізувати роботу враженого хворобою органу.

Таким чином, гомеопатичний метод лікування дає можливість лікарю лікувати хворого навіть в тих випадках, коли відсутні ознаки захворювання, а існують тільки суб'єктивні патологічні симптоми.

**Висновок.** Вчення Самуїла Ганемана дає гомеопатичній науці можливість найбільш точного і глибокого впливу на індивідуальні характеристики людського організму, пояснює як реалізувати потенційні можливості самого організму і, таким чином, вплинути на здоров'я людини. Однак, можна з впевненістю припустити, що плідотворні ідеї, закладені вченням Ганемана, ще далеко не повністю розкриті.

Очевидно, що спільне застосування кількох напрямлень медицини для профілактики та лікування захворювань є більш ефективним, ніж використання кожного окремо. Недостатню теоретичну обґрунтованість гомеопатії, так як і традиційної медицини, можна виправдати недосконалістю сучасної науки, яка поки що не може пояснити багато практичних закономірностей.

### 7.3 Мануальна терапія

Основним завданням мануальної терапії є ліквідація обмеженої рухливості суглобів, яка супроводжується больовими відчуттями і формують м'язову напругу. Основу мануального лікування складає виправлення руками порушень функції хребта, відновлення функції заблокованих суглобів та різні прийоми лікувального впливу на м'язовий апарат.

Механізм лікувальної дії мануальної терапії включає два основних моменти:

- механічний, пов'язаний з наступним відновленням нормальної функції суглобів;
- рефлекторний, який виникає в результаті впливу на м'язи, сухожилля і суглобі.

### 7.4 Рефлексотерапія

Рефлексотерапія це вплив на організм людини через шкіряні покриви, що містять рецептори. Місце такого впливу називається акупунктурною точкою. Ці точки візуально не видимі на шкірі, більш чутливі до болю при певних захворюваннях і, частіше всього, розташовані вповдовш великих

нервових волокон, в місцях виходу нервових закінчень. В основі реакції-відповіді після впливу на таку точку лежить рефлекс. Сигнал посланий з акупунктурної точки на поверхню тіла може рефлекторно викликати зміну будь-якої функції організму або роботи органу. Рефлекторний принцип регуляції функцій в організмі людини та тварин є універсальним фізіологічним принципом. Основні методи рефлексотерапії: голковколювання, електропунктура, припікання, кріопунктура, акупресура (масаж конкретних точок) та ін. Сучасна рефлексотерапія володіє багатьма методами впливу на акупунктурні точки, що дозволяє підібрати максимально індивідуальний метод лікування.

## 7.5 Фітотерапія

Метод фітотерапії, тобто лікування лікарськими травами, такий же древній, як і історія цивілізації. Власне, медицина бере свій початок з фітотерапії, яка пройшла складний шлях розвитку від примітивних спостережень – до розкриття механізмів дії лікарських рослин на організм.

Для успішного лікування хворого необхідно щоб в цьому процесі не було негативного впливу препарату на функції внутрішніх органів: печінки, нирок, не пригнічувалася діяльність ферментів, імунної та кровотворної систем. Препарати, виготовлені з лікарських рослин діють поступово, м'яко. Їх фізіологічна дія допомагає вирівняти і нормалізувати негативні зміни в організмі, забезпечує організм вітамінами, мінеральними солями, амінокислотами, підтримує оптимальний обмін речовин.

Кількість лікарських рослин у природі сягає 20 тисяч. Використовується в медицині тільки близько 300. Лікарські рослини в наш час – це велика кількість наукових відкриттів, які чекають нових досліджень. Наукова і практична медицина, поряд з використанням нових фармацевтичних препаратів, все частіше звертається до багатого світу рослин і знаходить у ньому бажані відповіді.

### Контрольні запитання

1. Яке місце займає фармакологія в системі медичних та біологічних наук?
2. Які нетрадиційні методи лікування ви знаєте?
3. Що таке гомеопатія?
4. Методи лікування в гомеопатії.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бондар В.С. та ін. Токсикологічна хімія. – Харків: НФАУ, 2002. – 159 с.
2. Крамаренко В.Ф. Токсикологическая химия. – К.: Выща школа, 1989. – 447 с.
3. Швайкова М.Д. Токсикологическая химия. – М.: Медицина, 1975. – 376 с.
4. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. – М.: «Просвещение», 1987. – 815 с.
5. Хмельницкий Г.А. и др. Ветеринарная токсикология. – М.: Агропромиздат, 1987. – 319 с.
6. Фармакология. Под ред. Дроговоз С.М. – Харьков: Основа, 1994. – 298 с.
7. Викторов А.П., Рыбак О.Т. Этнические особенности метаболизма лекарственных средств // Фармацевтический журнал. – 1996. – №3, С. 73-79.
8. Компендіум 2003 – лікарські препарати. За ред. Коваленко В.М., Вікторова О.П. – К.: МОРІОН, 2003. – 1388 с.
9. Каркищенко Н.Н. и др. Фармакокинетика. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2001. – 383 с.
10. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Под ред. Стефанова О.В. – К.: Авіцена, 2001. – 527 с.
11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Фисенко В.П. – М.: ИИА Ремедиум, 2000. – 398 с.
12. Западнюк И.П. и др. Лабораторные животные. – К.: Выща школа, 1983. – 383 с.
13. Руководство по клиническим испытаниям лекарственных средств. Под ред. Стефанова А.В., Мальцева В.И. – К.: Авиценна, 2001. – 379 с.
14. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. – М.: Медицина, 1982. – 368 с.
15. Фланаган Р. Дж. и др. Основы аналитической токсикологии. ВОЗ, Женева. – М.: Медицина, 1997 – 363 с.
16. Медична газета «Здоров'я України». – № 18, вересень 2005 р. – С.47.
17. Трахтенберг И. Запоздалые заметки. – К.: Авиценна, 2002. – 395 с.
18. Самосюк И.З., Войтаник С.А., Попова Т.Д., Гавата Б.В. Мануальная, гомеопатическая и рефлексотерапия остеохондроза позвоночника. – Изд.: Здоровье, 1992. – 78 с.
19. Попова Т.Д., Зеликман Т.Я. Гомеопатическая терапия. – Изд.: Здоровье, 1990. – 115 с.
20. Костинская Н.Е., Павловская И.Г. Семейная гомеопатия. – Киев: Ирпень, 1998. – 90 с.

Навчальне видання

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ  
ПОТЕНЦІЙНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

**КОНСПЕКТ ЛЕКЦІЙ**  
для студентів напрямку 6.051401 «Біотехнологія»  
(спеціальність «Біотехнологія біологічно активних речовин»)  
денної та заочної форм навчання

Укладачі: Волошина Олена Семенівна  
Антонюк Марія Миколаївна

**Видання подається в авторській редакції**

Підп. до друку 11.05.10. Ум. друк. арк. 9,81. Наклад 100 пр.  
Зам. № 052-10А

---

РВЦ НУХТ. 01601 Київ-33, вул. Володимирська, 68  
[www.book.nuht.edu.ua](http://www.book.nuht.edu.ua)

Свідоцтво про реєстрацію серія ДК № 1786 від 18.05.04 р.



