УДК 615.276:613.15:615.099-092.9 https://doi.org/10.26641/2307-0404.2025.2.333685

Я.Ю. Ніколаєва

РЕГЛАМЕНТУВАННЯ В ПОВІТРЯНОМУ СЕРЕДОВИЩІ НАСЕЛЕНИХ МІСЦЬ НЕСТЕРОЇДНОГО ПРОТИЗАПАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ «ДИКЛОФЕНАК НАТРІЮ»

ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва Національної академії медичних наук України»
вул. Гетьмана П. Полуботка, 50, Київ, 02094? Україна
State Institution «Marzieiev Institute for Public Health of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»
Hetman Pavlo Polubotka str., 50, Kyiv, 02094, Ukraine
e-mail: nikolaeva170691@gmail.com

Цитування: Медичні перспективи. 2025. Т. 30, № 2. С. 204-212
Cited: Medicni perspektivi. 2025;30(2):204-212

Ключові слова: *диклофенак натрію, нестероїдні протизапальні препарати, токсикологічні дослідження, регламентація, атмосферне повітря*
Key words: *diclofenac sodium, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, toxicological studies, regulation, atmospheric air*

Реферат. Регламентування в повітряному середовищі населених місць нестероїдного протизапального препарату «Диклофенак натрію». Ніколаєва Я.Ю. *Найпоширенішою групою лікарських засобів на сьогодні є нестероїдні протизапальні препарати, серед яких одним з найбільш вживаних є диклофенак натрію. Він чинить виражену протизапальну, анальгезуючу та помірну жарознижувальну дію шляхом пригнічення синтезу простагландинів. Цей активний фармацевтичний інгредієнт належить до другого класу Біофармацевтичної системи класифікації, який має високий ступінь проникності через біологічні мембрани, що призводить до можливості всмоктування диклофенаку натрію вже у шлунку, тим самим викликаючи небажані побічні та негативні ефекти. Зважаючи на великі обсяги виробництва та можливі серйозні побічні ефекти цього активного фармацевтичного інгредієнту, доцільно контролювати рівень цієї речовини в атмосферному повітрі. Метою цієї роботи було науково обґрунтувати гігієнічний регламент диклофенаку натрію в атмосферному повітрі населених місць на основі досліджень токсикологічних властивостей цього активного фармацевтичного інгредієнта. Піддослідні тварини (102 нелінійні білі миші, 136 нелінійних білих щурів обох статей, 60 короткошерстих мурчаків) були розподілені на піддослідні та контрольні групи по 6 особин у кожній. На основі отриманих показників летальності піддослідних тварин, з використанням методу пробіт-аналізу, було визначено показники токсичності при гострій дії речовини — напівлетальна доза при одноразовому внутрішньошлунковому способі введення DL_{50}вш для щурів-самиць (54,83 мг/кг), DL_{50}вш для мишей (550 мг/кг), DL_{50}ниж для щурів-самиць (104,4 мг/кг), та CL_{50} для щурів-самців (243,11 мг/м^3), CL_{50} для мишей (71,61 мг/м^3). За субхронічним впливом установлено, що диклофенак натрію має суперкумулятивну активність, оскільки коефіцієнти кумуляції при підгострих введеннях мишам та щурам <1 (0,94 та 0,96 відповідно). Визначено, що ця речовина не чинить виражену подразнювальну дію на слизову оболонку очей та не проявляє алергенних властивостей. Не викликає сенсибілізації організму. Показано, що можливість розвитку гострого отруєння від одноразового інгаляційного впливу диклофенаку натрію є малоймовірною, що підтверджується значенням коефіцієнта можливості інгаляційного отруєння (КМІО=0,000032). У свою чергу, на реальну небезпеку розвитку хронічного інгаляційного отруєння диклофенаком натрію вказує низьке значення показника Lim_{ch} (1,18 мг/м^3). Z_{biol} становить 60,7, що свідчить про значну ознаку здатності кумулюватись в організмі. Виражені кумулятивні властивості цієї речовини підвищують ризик виникнення хронічного отруєння. Визначено та обґрунтовано максимальну разову гранично допустиму концентрацію (ГДК м.р.) в атмосферному повітрі населених місць на рівні 0,03 мг/м^3. Таким чином, доцільно проводити контроль та моніторинг повітряного середовища в процесі виготовлення лікарських засобів з метою недопущення потрапляння диклофенаку натрію за межі санітарно-захисних зон.*

Abstract. Regulation of the non-steroid anti-inflammatory drug «Diclofenac sodium» in the air environment of populated places. Nikolaieva Ya.Yu. *The most common group of drugs today are non-steroidal anti-inflammatory drugs, among which diclofenac sodium is one of the most widely used. It has a pronounced anti-inflammatory, analgesic and moderate antipyretic effect by inhibiting the synthesis of prostaglandins. This active pharmaceutical ingredient belongs to the second class of the Biopharmaceutical classification system, which has a high degree of permeability through biological membranes, which leads to the possibility of absorption of diclofenac sodium already in the stomach, thereby causing*

На умовах ліцензії CC BY 4.0

unwanted side and negative effects. Considering the large volumes of production and possible serious side effects of this active pharmaceutical ingredient, it is advisable to control the level of this substance in atmospheric air. The purpose of this work was to scientifically substantiate the hygienic regulation of diclofenac sodium in the atmospheric air of populated areas based on studies of the toxicological properties of this active pharmaceutical ingredient. Experimental animals (102 non-linear white mice, 136 non-linear white rats of both sexes, 60 short-haired mice) were divided into experimental and control groups of 6 individuals each. Based on the obtained indicators of lethality of experimental animals, using the method of probit analysis, the indicators of toxicity during acute exposure of the substance were determined – semi-lethal dose with a single intragastric administration of DL_{50} for female rats (54.83 mg/kg), DL_{50} for mice (550 mg/kg), DL_{50} for rats-females (104.4 mg/kg), and CL_{50} for male rats (243.11 mg/m^3), CL_{50} for mice (71.61 mg/m^3). According to subchronic exposure, it was established that diclofenac sodium has supercumulative activity, since the cumulative coefficients for subacute administration to mice and rats are <1 (0.94 and 0.96, respectively). It was determined that this substance does not have a pronounced irritating effect on the mucous membrane of the eyes and does not exhibit allergenic properties. Does not cause sensitization of the body. It is shown that the possibility of developing acute poisoning from a single inhalation exposure to diclofenac sodium is unlikely, which is confirmed by the coefficient of the possibility of inhalation poisoning (CPIP=0.000032). In turn, the low value of the Lim_{ch} indicator (1.18 mg/m^3) indicates the real danger of developing chronic inhalation poisoning with diclofenac sodium. Z_{biol} is 60.7, which indicates a significant sign of the ability to accumulate in the body. Expressed cumulative properties of this substance increase the risk of chronic poisoning. The maximum one-time maximum permissible concentration (MPC) in the atmospheric air of populated areas at the level of 0.03 mg/m^3 was determined and substantiated. Thus, it is expedient to control and monitor the air environment during the production of medicinal products in order to prevent diclofenac sodium from entering the sanitary protection zones.

Глобальний розвиток фарміндустрії та євроінтеграція українського фармацевтичного ринку ставлять перед нами нові виклики сьогодення. А саме – виникають ризики щодо забруднення навколишнього середовища та безпосередньо атмосферного повітря готовими лікарськими засобами та активними фармацевтичними інгредієнтами (АФІ) під час їх виробництва, використання та утилізації.

Беручи до уваги екоспрямованість сучасної стратегії розвитку підприємства та забезпечення якості, зрозумілим є прагнення до максимального рівня екологічності не лише виробництва, але й у навколишньому середовищі.

Активні фармацевтичні інгредієнти лікарських засобів – сполуки, що мають виражену специфічну активність і при потраплянні в організм людини з довкілля є етіологічними чинниками різноманітних захворювань. Особливо небезпечним класом АФІ за таких умов є ті, що мають високий ступінь проникності через біологічні мембрани, що може призвести до всмоктування лікарського засобу вже у верхніх відділах шлунково-кишкового тракту (ШКТ), унаслідок чого відбувається прояв негативних та побічних ефектів і зниження ефективності [1, 2, 3].

Нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) сьогодні можна вважати найбільш уживаними в усьому світі лікарськими засобами для симптоматичної терапії болю та запалення [5]. Диклофенак натрію належить до групи нестероїдних протизапальних засобів і вважається одним з найбільш використовуваних похідних фенілоцтової кислоти для симптоматичної терапії запальних процесів різної етіології [6]. Популярність диклофенаку натрію в багатьох країнах світу пов’язана з тим, що препарат справляє виражену протизапальну, анальгезуючу та помірну жарознижувальну дію шляхом пригнічення синтезу простагландинів (основних модуляторів запалення) і таким чином зменшує усі прояви запалення.

Оскільки в літературі відсутні відомості щодо визначення диклофенаку натрію в атмосферному повітрі, неможливо оцінити й екологічні характеристики цього АФІ, передбачити наслідки його знаходження в довкіллі. Наказом МОЗ України № 813 від 10.05.2024 р. [8] регламентовано допустимий рівень в атмосферному повітрі населених місць лише 9-ти активних фармацевтичних інгредієнтів.

З огляду на це, гігієнічна регламентація є важливою в розрізі контролю забруднення атмосферного повітря поряд з вітчизняними фармвиробництвами з метою зниження навантаження цієї сполуки на організм людини для збереження здоров’я населення. Міжнародний досвід свідчить, що фармацевтичні речовини навіть у дуже малих концентраціях (мкг/л, нг/л та пг/л) призводять до негативних наслідків та завдають шкоди здоров'ю людини і функціонуванню екосистеми [7]. Крім того, вплив фармацевтичних речовин має накопичувальний ефект, що негативним чином впливає на здоров’я населення України.

Мета роботи – науково обґрунтувати максимальну разову гранично допустиму концентрацію диклофенаку натрію в атмосферному повітрі населених місць на основі досліджень токсикологічних властивостей цього активного фармацевтичного інгредієнта.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження було виконано в рамках договору виконання робіт науково-дослідного характеру

№ 210 від 29.01.2021 р. Договір було укладено ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМН України» з АТ «ЛУБНИФАРМ».

Дослідження проводились у лабораторії гігієни канцерогенних факторів та наноматеріалів та лабораторії контролю якості та безпеки продукції ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМН України». Згідно з наданими на розгляд Комітету з медичної етики матеріалами, стаття виконана з урахуванням чинних біотичних норм та стандартів щодо проведення наукових досліджень. Матеріали статті не містять відомостей, які становлять державну таємницю. Виходячи з вищезазначеного, комітет з медичної етики зробив висновок про можливість публікації статті «Регламентування в повітряному середовищі населених місць нестероїдного протизапального препарату «Диклофенак натрію» автора Я.Ю. Ніколаєвої відкритим друком (протокол № 3 від 21 жовтня 2024 року).

З урахуванням відмінностей токсичності фармакологічних речовин у тварин різних видів, дослідження проводили на декількох видах тварин [4]: нелінійних білих мишах, білих щурах та короткошерстих мурчаках. Тварини надійшли зі стандартизованого розподільника ПП «Біомодельсервіс» (м. Київ).

Тварини пройшли адаптацію, утримувались в умовах віварію на повноцінному харчовому раціоні та постійному доступі до води. Всього в експериментальних дослідженнях було задіяно 298 лабораторних тварин, з них: 102 безпородні білі миші з масою тіла 23-30 г, 136 щурів обох статей з масою тіла 180-220 г, 60 короткошерстих мурчаків з масою тіла 480-500 г, що були розподілені на піддослідні та контрольні групи з відповідним маркуванням по 6 особин у кожній. Маніпуляції з експериментальними тваринами та вивід тварин з досліджень проводили з дотриманням усіх вимог гуманності відповідно до положень принципів біоетики, законодавчих норм і вимог згідно з положеннями Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» та Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту № 249 від 01.03.2012 р. «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» з урахуванням правил Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 18 березня 1986 р., ETS No. 123) та вимог Директиви 2010/63/ЄС Європейського парламенту та Ради від 22 вересня 2010 року щодо охорони тварин, які використовуються в наукових цілях.

Об'єктом дослідження є зразки зареєстрованої в Україні субстанції диклофенаку натрію виробництва «Amoli Organics Pvt. Ltd.», Індія.

Диклофенак натрію – це кристалічний порошок білого або білого з жовтуватим відтінком кольору, малогігроскопічний. Переважний агрегатний стан у повітрі: аерозоль [6, 9, 10, 11].

Токсикологічні дослідження проводились із застосуванням загальноприйнятих методів визначення параметрів токсичності та небезпечності речовин згідно з:

- Методичними вказівками 1.1.5-121-2005 «Обґрунтування гранично допустимих концентрацій лікарських засобів у повітрі робочої зони та атмосферному повітрі населених місць», затв. Наказом МОЗ України від 21.10.2005 р. № 544 [12].
- Методичними рекомендаціями для планування та проведення високоякісних досліджень і випробувань на тваринах [13].
- Наказу МОЗ від 10.05.2024 № 813 «Про затвердження державних медико-санітарних нормативів допустимого вмісту хімічних і біологічних речовин в атмосферному повітрі населених місць» [7].

З метою визначення параметрів гострої токсичності в дослідженнях використовували безпородних статевозрілих щурів, мишей та мурчаків. Ключові характеристики гострої дії лікарського засобу, які було визначено у процесі експериментальних досліджень – напівлетальна доза (DL_{50}) при одноразовому внутрішньошлунковому способі введення та нашкірній аплікації і напівлетальна концентрація (CL_{50}) – при одноразовому інтраназальному способі введення [12, 14].

Критерієм токсичності диклофенаку натрію була летальність піддослідних тварин. Показники напівлетальної дози визначались методом пробіт-аналізу [15].

У дослідженнях токсичності при одноразовому внутрішньошлунковому способі надходження речовину вводили у вигляді суспензії у водному розчині в дозах, що відповідають DL_{50}вш, заявлених фірмою-виробником: для щурів – 76,5 мг/кг та DL_{50}вш для мишей – 265 мг/кг. Також було введено дози, що відповідають удвічі більшій та вдвічі меншій за напівлетальну, розраховані для щурів та мишей відповідно [20].

Застосовуючи метод інтраназального введення субстанції, усім тваринам з піддослідної групи (нелінійні статевозрілі щури-самці, статевозрілі білі миші) було одноразово введено визначені дози (щури-самці – 125,98 мг/м^3 та 157 мг/м^3, миші – 50 мг/м^3 та 100 мг/м^3) розчину диклофенаку натрію відповідно до Правил поводження з лабораторними тваринами [20]. Тваринам контрольної групи вводили дистильовану воду

На умовах ліцензії CC BY 4.0

[14]. Оцінювання стану тварин проводилася за єдиними показниками токсичної дії.

Нашкірні аплікації при дослідженні гострої токсичності проводили для білих щурів та мурчаків згідно з методичними вказівками про оцінку впливу шкідливих хімічних речовин на шкірні покриви [15], встановлювали показник DL_{50}ншк. Кількість піддослідних тварини, задіяних у дослідженнях: 24 щури (з них – 6 контрольних) та 24 мурчаки (з них – 6 контрольних).

Речовину наносили в дозах, що відповідають напілетальній дозі при нашкірному способі нанесення, удвічі меншій та вдвічі більшій дозі за напівлетальну: для щурів – це 139,25 мг/кг, 70,0 мг/кг та 279,0 мг/кг відповідно. Для мурчаків – 203,825 мг/кг, 102,0 мг/кг, 408,0 мг/кг відповідно.

Установлення алергічної реакції та місцевоподразнювальної дії здійснювали на короткошерстих мурчаках. Першій піддослідній групі (6 мурчаків) проводили нашкірні проби. Інша група мурчаків (6 особин) була об'єктом для дослідження провокаційної проби опухання вуха. В експерименті також задіяно 2 контрольні групи по 6 тварин у кожній. Сенсибілізуючи тварин введенням у шкіру вуха речовини дозою 200 мкг на одну тварину, прояв реакції негайного типу контролювали через 20 хвилин, і через 24-48 годин – для виявлення алергії повільного типу.

Оцінювання та облік впливу речовини на слизову оболонку ока проводили згідно з бальною шкалою [16] для короткошерстих мурчаків.

Для визначення ступеня кумуляції досліджуваної речовини використовували метод «субхронічної токсичності». Проводили внутрішньошлункові та інтраназальні введення диклофенаку натрію щурам – самцям та мишам обох статей по 2 дози диклофенаку натрію, що відповідають десятій частині та двадцятій частині від напівлетальної дози при внутрішньошлунковому способі введення та напівлетальній концентрації при інтраназальному способі введення. Усі тварини було розподілено на піддослідні групи та контрольні групи по 6 особин у кожній.

Розраховували коефіцієнт кумуляції K_k як відношення сумарної дози речовини, яка спричиняє смертність 50% піддослідних тварин при багаторазовому введенні в організм, до дози, яка спричиняє смертність 50% тварин при одноразовому введенні [17].

Реальну небезпеку розвитку гострих отруєнь оцінювали за зоною біологічної дії (Z_{biol}), яка представляє собою співвідношення середньої смертельної концентрації CL_{50} до порогової концентрації при хронічному впливі Lim_{ch}. Чим більше значення Z_{biol}, тим більше здатність сполуки до кумуляції в організмі.

Ступінь потенційної небезпеки гострих інгаляційних отруєнь диклофенаком натрію оцінювали за коефіцієнтом можливого інгаляційного отруєння (КМІО), який розраховували як відношення максимально досяжної концентрації речовини в повітрі або абсолютної леткості при температурі 20˚С (C_{max}, мг/м^3) до CL_{50} (КМІО = C_{max}: CL_{50}). Чим вище значення КМІО, тим ймовірніше можливість виникнення гострих інгаляційних отруєнь.

З метою розуміння механізму виникнення та розвитку трансформацій, які можливі в організмі при тривалому впливі диклофенаку натрію, визначали порогову концентрацію при хронічному впливі (Lim_{ch}, мг/м^3) – мінімальну концентрацію речовини, що викликає біологічний ефект при хронічному впливі на організм.

Коефіцієнт видових розбіжностей (КВР) визначали як відношення CL_{50} найстійкішого виду піддослідних тварин до CL_{50} найчутливішого виду піддослідних тварин.

Результати досліджень використані при обґрунтуванні максимальної разової гранично допустимої концентрації (ГДК м.р.) диклофенаку натрію в атмосферному повітрі населених місць.

Обрахунок і аналіз отриманих даних проводились з використанням загальноприйнятих методів описової статистичної обробки результатів токсиколого-гігієнічних та медико-біологічних досліджень [18] з використанням пакету комп'ютерної програми Microsoft Excel 2021 (MS Office 2021 №XKT49-PF7JD-VJPRY-DR9MW-2DRXZ).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Потенційну гостру токсичність хімічних речовин для людини прийнято оцінювати шляхом тестів на гризунах.

Першим етапом нашої роботи у вивченні ймовірності розвитку гострої токсичності субстанції було уточнення розрахункового токсикологічного параметра DL_{50} вш (доза препарату, при введенні якої у шлунок гине 50% тварин), який у подальшому був використаний для розрахунку DL_{50} при нашкірному нанесенні, та CL_{50} (концентрація препарату, при якій гине 50% піддослідних тварин).

Результати, описані в роботі [20], свідчать, що при одноразовому внутрішньошлунковому введенні щурам диклофенаку натрію в дозі 38,25 мг/кг на 14 добу загинуло 2 щури, а решта перебувала в пригніченому стані протягом 4-6 діб, після чого їх стан прийшов до норми. У групі, для якої застосували препарат у концентрації 76,5 мг/кг, загинуло 4 щури. У групі з концентрацією

диклофенаку натрію 153 мг/кг загинули всі тварини з піддослідної групи.

Дані, отримані в результаті разового внутрішньошлункового введення щурам, були використані для побудови графіків залежності «доза-ефект», визначення показника DL_{50}вш, який становив 54,83 мг/кг [20].

При одноразовому внутрішньошлунковому способі введення активної речовини мишам-самицям у дозі 550 мг/кг встановлено, що ця концентрація диклофенаку натрію викликає загибель 50% піддослідної групи.

Автори роботи [19], посилаючись на фармакологічний огляд Центру дослідження та оцінки лікарських засобів, стверджують, що пероральний та внутрішньом'язовий способи введення диклофенаку натрію (0,25-40 мг/кг/добу) призвели до токсичності з боку ШКТ, гіпертрофії та гіперплазії лімфатичних вузлів і анемії, а також зміни показників функції печінки або нирок. Пов'язані зі шлунково-кишковим трактом кровотеча або анорексія спостерігалися під час дослідження гострої токсичності, та значення DL_{50} було 95-1300 мг/кг для мишей, 53-1500 мг/кг для щурів, 125-300 мг/кг для кроликів, 1110-1250 мг/кг для мурчаків, 59-800 мг/кг для собак і 3200 мг/кг для мавп.

Отриманий нами результат DL_{50}вш для щурів =54,83 мг/кг знаходиться на нижній межі діапазону наведених даних, що є ознакою підвищеної чутливості щурів до диклофенаку натрію.

При одноразовому внутрішньошлунковому способі введення активної речовини мишам-самицям у дозі 550 мг/кг встановлено, що ця концентрація диклофенаку натрію викликає загибель 50% піддослідної групи.

Одержані відомості можна порівняти з медіанними значеннями при внутрішньошлунковому способі введення, наведеними в статті [19], що становить 602,5 мг/кг для мишей, які є зіставними, на відміну від даних DL_{50}, отриманих для щурів при аналогічному способі введення. З огляду на вищезазначені дані, показник для щурів, наведений у статті [19], у 13 разів більший за встановлений у цій роботі.

Значні відмінності в показниках токсичності можуть пояснюватися впливом численних змінних, серед яких слід відзначити вік, стать, масу тіла, стан здоров'я, генетичні особливості, харчування, момент проведення оцінювання після введення препарату, температурний режим, умови утримання (наприклад, індивідуальна ізоляція чи групове утримання), а також добову та сезонну варіативність.

Отримані в роботі Hyung-Sun Kim et al. дані демонструють, що рівень дози диклофенаку натрію, при якій не спостерігається негативних впливів, становить 2 мг/кг/добу в мінісвиней обох статей. Вищі дози (10 і 20 мг/кг/день) викликали дозозалежні клінічні симптоми, зміни гематологічних та біохімічних показників, а також макроскопічні й гістопатологічні ураження печінки, нирок, травного тракту, шкіри та місць ін'єкцій. Однак після двотижневого періоду відновлення більшість симптомів, за винятком шкірних уражень, мала тенденцію до зникнення [19].

При потраплянні великої кількості диклофенаку натрію в атмосферне повітря населених місць він може впливати не лише на органи дихання, а й на шкіру та слизові оболонки.

Для повноти експериментальної роботи були проведені гострі нашкірні аплікації досліджуваної речовини.

При нанесенні досліджуваної речовини на шкіру тварин визначено, що диклофенак натрію не викликає смертельного ефекту в мурчаків. Нанесення речовини у високих концентраціях викликає подразнення шкіри тварин. Однак диклофенак натрію, просочуючись крізь шкіру, призводить до змін стану здоров'я та загибелі щурів загалом.

Піддослідним щурам-самицям було введено нашкірно досліджувану речовину у вигляді розчину дозою 104,4 мг/кг. За результатом експерименту встановлено, що ця доза є DL_{50} ншк.

У результаті проведення провокаційної проби опухання вуха мурчаків з метою вивчення подразнювальної дії препарату, товщина вух та їх зовнішній вигляд у всіх піддослідних тварин порівняно з контрольними не змінилися. Подразнень та потовщень немає. Отже, тест на провокаційну пробу опухання вуха негативний.

Значення DL_{50}, визначені для двох видів піддослідних тварин, дозволяють розрахувати CL_{50}, оскільки між цими токсикологічними показниками існує кореляція.

З метою уточнення токсикологічного параметра CL_{50} проведено випробування інтраназальним шляхом надходження лікарського засобу в організм тварин (нелінійні статевозрілі щури-самці, нелінійні статевозрілі білі миші). Встановлено, що напівлетальна концентрація диклофенаку натрію для мишей становить 71,61 мг/м^3, CL_{50} для щурів - самців становить 243,11 мг/м^3.

Завдання другого етапу експерименту – це визначення кумулятивних властивостей диклофенаку натрію в підгострих дослідах.

Доклінічні дослідження в роботі [21] на різних видах тварин показали, що найбільш несприятливі побічні ефекти при пероральному вживанні диклофенаку натрію зазвичай виникали з боку нирок, печінки та шлунково-кишкової

На умовах ліцензії CC BY 4.0

системи. Наприклад, гепатобіліарна, нефро- та ШКТ-токсичність спостерігалася після 28 днів повторного перорального прийому в мишей (9,5 мг/кг/добу).

Як свідчать звіти Європейської агенції з оцінки лікарських засобів (Великобританія) і Центру дослідження та оцінки лікарських засобів (CDER, FDA, Сполучені Штати Америки), порушення функції ШКТ, печінки та нирок спостерігалися в дослідженнях хронічної токсичності при пероральному, нашкірному або підшкірному способах введення диклофенаку натрію протягом терміну від 1 тижня до 1 року.

Водночас доза, що не призводила до побічних ефектів, становила 2,5 мг/кг у щурів (пероральний спосіб введення протягом 91 дня), 7 мг/кг у щурів, яким вводили диклофенак натрію внутрішньовенно протягом 4 тижнів, і 3 мг/кг у мавп, яким вводили диклофенак натрію внутрішньовенно протягом 4 тижнів [19]. Отримані нами дані узгоджуються з описаними вище результатами при багаторазовому способі впливу активної речовини на мишей та щурів. Автори публікації зазначають, що не виявили впливу диклофенаку натрію на споживання їжі, масу тіла, ці маніпуляції не призвели до появи клінічних симптомів інтоксикації, змін у гематологічних та біохімічних параметрах, а також до порушень у структурі тканин.

У свою чергу, дослідження кумулятивних властивостей дозволило нам встановити, що при щоденному внутрішньошлунковому введенні мишам однієї двадцятої DL_{50} диклофенак натрію проявляв суперкумулятивні властивості, оскільки коефіцієнт кумуляції (K_k) становив 0,94<1.

Привертає увагу залежність K_k від щоденної дози введення: чим вона менша, тим більше виражені кумулятивні властивості диклофенаку натрію.

Також для вивчення кумулятивних властивостей диклофенаку натрію провели експеримент з багаторазовими інтраназальними введеннями препарату щурам та мишам по 2 дози диклофенаку натрію (1/10, 1/20 від CL_{50}). При щоденному введенні однієї двадцятої DL_{50} інтнз диклофенак натрію проявляв суперкумулятивні властивості, коефіцієнт кумуляції (K_k) становив 0,96<1.

Зауважено, що при одноразовому інтраназальному введенні диклофенаку натрію до нього більш чутливими є миші, CL_{50} для яких майже втричі менша, ніж для щурів. При десятиразових введеннях – щури, оскільки їх загинуло троє, а всі миші вижили.

Результати досліджень дали можливість провести розрахунки кількісних параметрів токсикометрії, оцінити ступінь розвитку гострих та хронічних отруєнь, потенційну й реальну небезпеку диклофенаку натрію (табл.).

Критерії небезпеки впливу диклофенаку натрію

Показник небезпечності	Величина показника	Кількість балів
CL_{50}, мг/м^3 для мишей	**71,61**	**8**
Lim_{ch}, мг/м^3	**1,18**	**6**
Z_{biol}, мг/м^3	**60,7**	**4**
$КМІО_{CL}$	**0,0000032**	**2**
КВР	**3,395**	**6**
$К_з$	**12**	**Σ 26**
DL_{50}вш, мг/кг для щурів-самиць для мишей	**54,83 550**	**-**
CL_{50}, мг/м^3 для щурів-самців	**243,11**	**-**
DL_{50}ншк, мг/кг для щурів-самиць	**104,4**	**-**
Коефіцієнт кумуляції, $К_{кум}$ для мишей (вш) для щурів-самців (інтриз)	**0,94 0,96**	**-**
Місцево-подразнювальна дія на: шкіру, бали; очі, бали	- -	**-**
Шкірно-резорбтивна дія, наявність	**наявна**	**-**

За даними таблиці видно, що можливість розвитку гострого отруєння від одноразового інгаляційного впливу диклофенаку натрію є малоймовірною, що підтверджується значенням коефіцієнта можливості інгаляційного отруєння (КМІО=0,000032) за причини невисокої летючості досліджуваної речовини. У свою чергу, на реальну небезпеку розвитку хронічного інгаляційного отруєння диклофенаком натрію вказує низька величина Lim_{ch} (1,18 мг/м^3). Z_{biol} становить 60,7, що свідчить про виражену ознаку здатності кумулюватись в організмі. Виражені властивості цієї речовини підвищують ризик виникнення хронічного отруєння.

Таким чином, результати цього дослідження дали змогу провести всебічне оцінювання токсикологічних характеристик активного фармацевтичного інгредієнту – диклофенаку натрію та визначити лімітуючий критерій його шкідливості.

Установлено, що диклофенак натрію за показниками гострої пероральної токсичності належить до 2 класу небезпечності.

Для розрахунку ГДК (м.р.) диклофенаку натрію в атмосферному повітрі населених місць використовувались два види тварин, задіяні в експерименті, а саме: щури та миші. З метою зниження загрози для здоров'я людей та для більш точного визначення класу небезпеки диклофенаку натрію було прийнято як остаточну ГДК ту, яка була розрахована за чутливішим до інтраназального введення видом тварин. У нашому експерименті це – миші.

Для обґрунтування максимальної разової гранично допустимої концентрації був розрахований коефіцієнт запасу. Загальна сума становила 26 балів, що відповідає коефіцієнту запасу 12 (табл. 1).

Перерахунок для встановлення ГДК (м.р.) диклофенаку натрію в атмосферному повітрі населених місць для людей базувався на методі екстраполяції доз ксенобіотиків з одного виду тварин на інший. Він полягає в тому, що коефіцієнт видової стійкості R до отрути знаходиться в залежності від основного об'єму Q, роботи серця V та маси мозку Кс. У загальному вигляді ця залежність виражена формулою:

$$\mathbf{R=(QV/Kc)^{0,5}}$$

R людини дорівнює 0,57. Тварини, які найчастіше використовуються в токсикологічних експериментах, мають такі R: миша – 3,2; лабораторний щур – 3,62; мурчак – 2,63.

Проведення регресійного аналізу зв'язку токсичності з коефіцієнтами видової стійкості дозволило побудувати таке рівняння:

$$\mathbf{DL_{50}\text{людини} = R\ \text{людини} \times DL_{50}\ \text{тварини}/R\ \text{тварини},}$$

з цього випливає, що:

$$\mathbf{CL_{50}\ \text{людини} = R\ \text{людини} \times CL_{50}\ \text{тварини}/R\ \text{тварини}}$$

$$\mathbf{CL_{50}\text{людини} = 0,57 \times 71,61 / 3,2 = 12,76\ мг/м^3}$$

$$\mathbf{lgLim_{ch}\ (мг/м^3) = 0,62 \times lg\ CL_{50} - 1,08 = 0,62 \times 1,1058 - 1,08 = -0,394404}$$

$$\mathbf{Lim_{ch} = 0,40327\ мг/м^3}$$

$$\mathbf{ГДК\ диклофенаку\ натрію\ в\ атмосферному\ повітрі\ населених\ місць =}$$

$$\mathbf{= Lim_{ch} / Кз = 0,40327 / 12 = 0,03\ мг/м^3}$$

Таким чином, на підставі результатів лабораторних гігієнічних досліджень науково обґрунтовано ГДК (м.р.) диклофенаку натрію (натрію 2-[(2,6-дихлорфеніл)-аміно]-фенілоцтового) в атмосферному повітрі населених місць на рівні 0,03 мг/м^3. Зазначений медико-санітарний норматив розглянуто на засіданні комісії з гігієнічного нормування хімічних речовин в атмосферному повітрі населених місць ДП «Комітет з питань гігієнічного регламентування МОЗ України» та затверджено в чинному порядку. Розроблено Методику визначення диклофенаку натрію в атмосферному повітрі населених місць з межами кількісного визначення методом високоефективної рідинної хроматографії, яка дозволяє контролювати дотримання рекомендованої ГДК (м.р.).

З метою недопущення потрапляння диклофенаку натрію в навколишнє середовище потрібно дотримуватися правил безпеки й застережних заходів при виготовленні та транспортуванні цієї речовини. Варто проводити моніторинг концентрації диклофенаку натрію в повітрі виробничих приміщень заводів, де

На умовах ліцензії CC BY 4.0

виготовляється ця речовина, та в атмосферному повітрі населених місць, які розміщені поблизу.

ВИСНОВКИ

1. Результати досліджень дозволили провести розрахунки кількісних параметрів токсикометрії, оцінити ступінь розвитку гострих та хронічних отруєнь, реальну та потенційну небезпеку диклофенаку натрію. За показником коефіцієнта можливості інгаляційного отруєння, який становив 0,000032, потенційна можливість розвитку гострого отруєння від одноразового інгаляційного впливу диклофенаку натрію є малоймовірною. Розрахована величина Limch (1,18 мг/м3) свідчить про реальну небезпеку розвитку хронічного інгаляційного отруєння. У свою чергу, отримане значення показника зони біологічної дії становить 60,7 та свідчить про виражені кумулятивні властивості речовини, що також підтверджено коефіцієнтами кумуляції при внутрішньошлунковому та інтраназальному способах введення речовини піддослідним тваринам (Ккум<1).

2. У результаті проведених досліджень установлено, що диклофенак натрію чинить шкірно-резорбтивний ефект, не чинить вираженої подразнювальної дії на слизову оболонку очей та не проявляє алергенних властивостей. Не викликає сенсибілізації організму.

3. На основі отриманих показників токсичності диклофенаку натрію обгрунтована та затверджена ГДК (м.р.) в атмосферному повітрі населених місць, яка становить 0,03 мг/м3.

4. Отримані в дослідженні токсикологічні результати при гострому та субхронічному впливі та проведене медико-санітарне регламентування диклофенаку натрію в атмосферному повітрі населених місць, зважаючи на високий ступінь мембранної проникності цієї речовини, дозволить знизити навантаження цієї сполуки на екосистему та організм людини з метою збереження здоров'я населення України.

Фінансування. Дослідження профінансовано за рахунок АТ «ЛУБНИФАРМ».

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

REFERENCES

1. ICH harmonised guideline biopharmaceutics classification system – based biowaivers M9. Final version Adopted on 20 November 2019 [Internet]. 2019 [cited 2024 May 06]. Available from: https://database.ich.org/sites/default/files/M9_Guideline_Step4_2019_1116.pdf

2. Imai T, Hazama K, Kosuge Y, Suzuki S, Ootsuka S. Preventive effect of rebamipide on NSAID-induced lower gastrointestinal tract injury using FAERS and JADER. Scientific reports. 2022;12(1):2631. doi: https://doi.org/10.1038/s41598-022-06611-y

3. Bocci G, Oprea TI, Benet LZ. State of the Art and Uses for the Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System (BDDCS): New Additions, Revisions, and Citation References. AAPS J. 2022 Feb 23;24(2):37. doi: https://doi.org/10.1208/s12248-022-00687-0

4. Erhirhie EO, Ihekwereme CP, Ilodigwe EE. Advances in acute toxicity testing: strengths, weaknesses and regulatory acceptance. Interdiscip Toxicol. 2018;11(1):5-12. doi: https://doi.org/10.2478/intox-2018-0001

5. Vohra F, Raut A. Comparative efficacy, safety, and tolerability of diclofenac and aceclofenacin musculoskeletal pain management: A systematic review. Indian J of Pain. 2019;30(1):1-69. doi: https://doi.org/10.4103/0970-5333.173431

6. Yehudina ED. [Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: evidence of effectiveness, facts, myths]. Neurology aspects of treatment. 2021;3:20-1. Ukrainian.

7. [On the approval of state medical and sanitary standards for the permissible content of chemical and biological substances in the atmospheric air of populated areas. Order of the Ministry of Health of Ukraine dated 2024 May 10 No. 813] [Internet]. 2024 [cited 2024 Jul 14]. Ukrainian. Available from: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0763-24#Text

8. UNEP/WHO – United Nations Environment Programme/World Health Organization. State-of-the-Science of Endocrine Disrupting Chemicals [Internet]. 2012 [cited 2024 Oct 10]. Available from: https://www.unep.org/resources/publication/state-science-endocrine-disputing-chemicals-ipcp-2012

9. Diclofenac (sodium salt). Safety data sheet. Cayman chemical [Internet]. 2022 [cited 2024 May 24]. Available from: https://cdn.caymanchem.com/cdn/msds/70680m.pdf

10. Panchal N, Kaur M, Tharmatt A, Thakur S, Jain SK. Development, Characterization and Evaluation of Parenteral Formulation of Diclofenac Sodium. AAPS PharmSciTech. 2020;21(6):219. doi: https://doi.org/10.1208/s12249-020-01729-6

11. Diclofenac sodium. National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information [Internet]. 2022 [cited 2024 May 24]. Available from: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Diclofenac-sodium

12. [On approval of guidelines "Justification of the maximum permissible concentrations of drugs in the air of the working area and the atmospheric air of populated areas". Order of the MH of Ukraine dated 2005 Oct 21 No. 544]. [Internet] 2005 [cited 2024 Jun 22]. Ukrainian. Available from: https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0544282-05#Text

13. Smith AJ. Guidelines for planning and conducting high-quality research and testing on animals. Lab Anim Res. 2020 Jul 10;36:21.
doi: https://doi.org/10.1186/s42826-020-00054-0

14. Eyme KM, Carvalho L, Badr CE. Intranasal delivery of experimental compounds in orthotopic brain tumor mouse models. STAR Protocols. 2021;2(1):100290. doi: https://doi.org/10.1016/j.xpro.2020.100290

15. Halmi MI, Rahim MB, Othman AR. Estimation of LC50 and its Confidence Interval for the Effect of Ferrous Sulphate on Catla catla. JEMAT. 2018;6(1):21-3. doi: https://doi.org/10.54987/jemat.v6i1.402

16. Novosad NV. [Laboratory animals and technique of biological experiment]. Zaporizhzhia: ZNU; 2011. 85 p. Ukrainian.

17. Lim KS, et al. A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses. Arch Intern Pharmacodyn Ther. 1961;130:336-42. UDC 685.34.042:612.014.46:547.962.3:616-001:54.024

18. Antomonov MYu. [Mathematical processing and analysis of medical and biological data]. Kyiv: MYCz "Medynform"; 2018. 579 p. Ukrainian.

19. Kim HS, Kang GH, Yang MJ, Ahn HJ, Han SC, Hwang JH. Toxicity of diclofenac sodium salt in Yucatan minipigs (Sus scrofa) following 4 weeks of daily intramuscular administration. Toxicol Rep. 2021 Feb 26;8:557-570. doi: https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.02.022

20. Nikolaieva YI, Hlavachek DO. [Study of acute toxicity parameters of Diclofenac sodium by different methods of administration]. Bulletin of the Vinnytsia National Medical University. 2023;27(4):548-53. Ukrainian. doi: https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2023-27(4)-02

21. Patel JH, Thanagari BS, Fefar DT, Prajapati KS, Jivani BM, Thakor KB, et al. Haemato-biochemical alterations induced by diclofenac sodium toxicity in Swiss albino mice. Vet World. 2012;5(7):417-9.
doi: https://doi.org/10.5455/vetworld.2012.417-419

Стаття надійшла до редакції 30.10.2024;
затверджена до публікації 10.02.2025

На умовах ліцензії CC BY 4.0