

Л. В. Бойцова, Г. М. Шаяхметова, **А. В. Матвієнко**,  
В. М. Непомнящий, О. С. Хромов, А. І. Соловійов

## Оцінка токсикологічних властивостей ліпосомальної форми оксиду азоту

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології  
Національної академії медичних наук України»,  
м. Київ

*Ключові слова: ліпосомальна форма оксиду азоту, гостра токсичність, токсичність при повторних уведеннях*

Оксид азоту (NO) є критично важливою сигнальною молекулою, що бере участь у модуляції безлічі фізіологічних реакцій, а саме: підтримці артеріального тиску в серцево-судинній системі [1, 2], регуляції нервової передачі в мозку [3, 4], стимуляції захисних сил організму в імунній системі [5], процесі агрегації тромбоцитів [6, 7], цитотоксичності та цитопротекції [8], чоловічій статевій функції [9], гастропротекції [10] та ін. Численні патологічні процеси, як-от гіпертонія, атеросклероз, порушення кровотоку в центральній нервовій системі та нездатність до судинного ремоделювання, викликані недостатністю ендогенного синтезу / вивільнення NO. У таких випадках додаткове введення NO може бути дуже ефективною стратегією в лікуванні захворювань, які пов'язані з зазначеними патологічними процесами [11].

У фізіологічних концентраціях (піко- та наномолярних) NO відіграє ключову роль у підтримці гомеостазу [12], але цитотоксичний за вищих концентрацій. Він може реагувати з активними формами кисню (АФК), зокрема супероксидом, з утворенням пероксинітрату, що викликає перекисне окиснення ліпідів, тіолів, амінів, жирних кислот, нітрату тирозину

та гідроксилатгуанінів при низькому рН. Ці умови призводять до оксидативного / нітрозативного стресу [13].

Оскільки NO має багатогранну роль у фізіологічних і патологічних процесах, він повинен бути доставлений до цільової ділянки в необхідній дозі та часовому інтервалі для виконання біологічних функцій. Однак газоподібний NO є досить складним у використанні. Проте доставка газоподібного NO до легень шляхом інгаляції виявилася ефективною при легеневої гіпертензії [14]. Окрім цього специфічного застосування та враховуючи летку природу NO, часто потрібен молекулярний носій для його стабільного вивільнення в цільовій ділянці. Через величезний терапевтичний потенціал NO дослідження протягом останніх двох десятиліть були зосереджені на розробці платформ і донорів, що вивільняють NO, які можуть точно контролювати його кількість, вивільнення в цільових місцях, обмежуючи при цьому цитотоксичність. Донори NO не тільки зберігають і вивільняють NO, але й покращують його фармакокінетику.

Використання полімерних наночастинок (НЧ) як донорів NO є дуже перспективним. Полімерні НЧ, що вивільняють NO, можуть бути виготовлені шляхом включення або кон'югації молекул-донорів NO в ядро полімеру або шляхом модифікації поверхні НЧ. Завдяки своєму

нанорозміру НЧ можуть легко проникати в тканини-мішені, демонструючи виняткові властивості поглинання, розподілу, метаболізму та виведення [15]. Для збільшення періоду розпаду та ефективності завантаження були розроблені полімерні НЧ (наприклад, хітозану, декстрану, поліетиленгліколю – ПЕГ, альгінату та желатину) для біомедичних застосувань, таких як протиінфекційна, антиоксидантна та протизапальна активність [16]. Також збільшуючи як біодоступність NO, так і його стабільність у кровообігу, полімери, такі як платформи доставки на основі ПЕГ (завантажені органічними донорами NO), покращують вивільнення та терапевтичний ефект NO [17]. Щоб досягти значного терапевтичного ефекту та усунути необхідність частого введення доз, NO повинен мати пролонговане вивільнення з донора протягом тривалого періоду. Полімери, такі як НЧ на основі полі(молочної ко-гліколевої кислоти) (PLGA) / полі(гліколід-лактиду) (PGLA)-поліетиленіміну (PEI), є придатними донорами NO завдяки їхньому покращеному біорозподілу, що пояснюється пролонгованими та стійкими профілями вивільнення. Дендримери – це високорозгалужений клас полімерів, які синтезуються поступово для створення спеціалізованої структури. Їхня багатогранна функціональність робить дендримери придатною макромолекулою для доставки ліків [18].

НЧ кремнезему є одними з поширених донорів NO для локальної його доставки. Простий і легкий спосіб синтезу, регульована хімія та розмір поверхні, уповільнене вивільнення та нетоксичні властивості роблять НЧ кремнезему потужним потенційним носієм доставки NO [19]. Окрім НЧ кремнезему, НЧ золота (Au) є ще одним перспективним варіантом як донори NO [20].

Натепер використання донорів NO обмежено дуже коротким періодом його напіврозпаду. Є свідчення про численні спроби контролювати період напіввиведення NO, включаючи й використання носіїв на основі ліпідів, що зумовлено біосумісністю та універсальністю самих носіїв. Створення ліпідних систем, що вивільняють NO, для імітації природної швидкості його вивільнення є складним завданням.

До перспективних стратегій, що належить освоїти, слід віднести NO-вивільняючі ліпідні бішари з використанням імітуючих глутатіонпероксидазу каталізаторів замість везикул або використання ліпофільних донорів, таких як нітролеат, замість звичайних гідрофільних донорів NO [21, 22].

Відомі ліпосомальні форми NO потребують для його вивільнення впливу зовнішніх фізичних факторів (ультразвук, лазерне опромінення) або містять хімічні сполуки (донори NO), які мають низьку вазодилататційну активність [23, 24].

Важливим етапом у комплексному доклінічному дослідженні нових потенційних лікарських засобів є вивчення їхніх токсикологічних параметрів.

*Мета дослідження* – експериментальне вивчення токсикологічних властивостей нового фармакологічного засобу – ліпосомальної форми NO для обґрунтування безпеки при застосуванні в клінічній практиці.

**Матеріали та методи.** Досліджуваній експериментальній фармацевтичній засіб «Ліпосомальна форма оксиду азоту, ліофілізат для приготування емульсії» – Lip (NO) був розроблений ТОВ «Нано Технології в Медицині» (Україна) для проведення доклінічних досліджень його специфічної активності та безпеки.

Дослідження гострої токсичності та токсичності при повторних уведеннях тест-зразка Lip (NO) проведені відповідно до «Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів» в обсязі вимог ДП «Державний експертний центр МОЗ України» [25]. Маніпуляції з тваринами здійснювали відповідно до законодавства України [26], Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою [27].

Дослідження гострої токсичності проводили на білих нелінійних щурах обох статей масою тіла 160–180 г (на момент отримання). Після отримання кожна тварина була оглянута кваліфікованим ветеринаром із метою визначення здоров'я, зважена, пронумерована, помічена з використанням розчину діамантового зеленого (1 % спиртовий розчин) та розміщена в клітці по 5 особин в кожному для акліматизації протягом 7 днів. У кімнатах для утримання тварин підтримувались наступні умови: температура – 20–24 °С, вологість – 30–70 %, цикл освітлення – 12 год світло / 12 год темрява. Усім щурам згодовувався *ad libitum* стандартний раціон для лабораторних тварин, що подавався фірмою «Phoenix» («Фенікс», Україна). Вода з міської водопровідної мережі (після оберненого осмосу та стерилізації УФ-випромінюванням) надавалась *ad libitum*. За 24 год до введення тест-зразка Lip (NO) щури були оглянуті кваліфікованим ветеринаром із метою визначення здоров'я та зважені. З використанням системи випадкових номерів 20 тварин із масою тіла в межах 170–190 г були відібрані для дослідження та розподілені на чотири групи: по 6 щурів (2 експериментальні групи – самці, самки) і по 4 тварини (кон-

троль) в кожній. Було використано внутрішньоочеревинний (в/о) шлях введення тест-зразка Lip (NO) як такий, що дозволяє виявити токсичні ефекти на системному рівні та відповідно до такого для потенційного клінічного застосування в людини (внутрішньовенний). Сухий ліофілізат ліпомальної форми NO являє собою стабільну форму, яка зберігається за температури нижче ніж 0 °С. Для дослідів використовується відновлена емульсія фармакологічного засобу необхідним розчинником. Гостру токсичність тест-зразка Lip (NO) досліджували за його одноразового в/о введення в дозі 90 мг/кг (за фосфатидилхоліном) у максимально допустимому об'ємі (5,0 мл на 1 щура) [28]. Тваринам контрольної групи аналогічним чином було введено фізіологічний розчин – 5,0 мл на 1 щура.

Спостереження за щурами проводили протягом 14 днів після введення тест-зразка Lip (NO) та контрольного зразка.

Клінічні ознаки токсичності (з реєстрацією часу виникнення та зникнення клінічних проявів токсичності) у всіх тварин і наявність / відсутність загибелі тварин реєстрували в перший день після введення тест-зразка Lip (NO) протягом першої години безперервно, а потім через 2, 3, 5 год після введення. Протягом наступних 14 днів кожному тварину обстежували щоденно, загибель / виживання тварин і прояв клінічних ознак токсичності контролювали двічі на день. Після завершення термінів спостереження тварини були піддані евтаназії, яка здійснена шляхом цервікальної дислокації з використанням легкого наркозу ефіром, і передані для морфологічних досліджень.

Індивідуальну масу тіла тварин реєстрували перед уведенням тест-зразка Lip (NO) у день введення

та потім через 3, 7, 14 днів. Зміни маси тіла щурів розраховувалися порівняно з масою в день введення та масою тіла контрольної групи.

Дослідження токсичності тест-зразка Lір (NO) при повторних в/о уведеннях були проведені на щурах обох статей протягом 14 днів за аналогічних умов утримання тварин, що й при дослідженні гострої токсичності. Щури (36 тварин) були зважені та з використанням системи рандомних номерів відібрані для дослідження, послідовно промарковані та розсаджені в 6 кліток по 6 особин – відповідно до дозових рівнів: терапевтична доза (ТД) – 10 мг/кг в 3 мл у перерахунку на фосфатидилхолін); доза, що вища за терапевтичну в 5 разів (5 ТД) – 50 мг/кг в 3 мл у перерахунку на фосфатидилхолін і контрольна група тварин, які отримували фізіологічний розчин.

За тваринами вели спостереження протягом усього періоду експозиції тест-зразка Lір (NO): проводили моніторинг клінічних ознак інтоксикації, маси тіла. Перед евтаназією було проведено обстеження тварин, узяті зразки для аналізу сечі. Щури були піддані евтаназії через 24 год після останнього введення тест-зразка Lір (NO). Під легким ефірним наркозом відібрано зразки крові та здійснено евтаназію цервікальною дислокацією. Перед забором крові всі тварини голодували протягом ночі. Безпосередньо перед евтаназією всіх тварин було зважено. Здійснено розтин, макроскопічний огляд і взяття органів для визначення маси та мікроскопічних досліджень.

Аналіз сечі було проведено з використанням діагностичних смужок Medi-Test Combi 11 (Німеччина) протягом 5 год після отримання зразків.

У всіх щурів із дослідної та контрольної груп через 24 год після останнього введення тест-зразка Lір (NO)

під легким ефірним наркозом у пробірці для гематології з калієм ЕДТА (КАВЕ Labortennik) була зібрана кров зі стегнової вени. Зразки крові були вивчені в день отримання за допомогою автоматичного гематологічного аналізатора Mythic 22 (Швейцарія). Біохімічні показники сироватки крові були досліджені в день отримання за допомогою автоматичного біохімічного аналізатора Prestige 24i (Японія).

Були вилучені та зважені наступні органи: печінка, нирки, наднирники, селезінка, легені, серце, головний мозок, сім'яники, яєчники. Парні органи були зважені разом. Відносна маса органів розраховувалась у грамах на 100 г маси тіла.

Зразки тканин від кожної тварини згідно з наведеним вище переліком були фіксовані в 10 % нейтральному формаліні, дегідровані в етанолі зростаючих концентрацій і вміщені в парафін. Гістологічні зрізи з парафінових блоків товщиною 5–6 мкм фарбували гематоксиліном і еозинном. Препарати вивчали за допомогою мікроскопа Olimpus BX 41 (Японія) і фотографували цифровою камерою Sp-500 UZ.

Дані наведено як середнє значення  $\pm$  похибка середнього ( $M \pm m$ ). Статистичну обробку даних було виконано з використанням t-критерію Стьюдента або U-тесту Манна-Уїтні. Зміни вважали статистично значущими в разі  $p < 0,05$ . Для статистичної обробки даних було використано програму MS Excel.

**Результати та їх обговорення.** Безпосередньо після введення тест-зразка Lір (NO) було відмічено протягом 15–30 хв у тварин обох статей витягування задньої кінцівки при русі з боку місця введення та поодинокі корчі, що, можливо, пов'язано з місцево-подразнюючою дією останнього за рахунок високої щільності розчину.

У щурів протягом перших 4 год після введення тест-зразка Lp (NO) спостерігали зменшення рухової активності: тварини видавалися сплячими за різних положень тіла, проте відновлювали активність у разі доторкання чи звукового подразнення. Не відмічено порушень дихання, рефлексів, патологічних симптомів з боку серцево-судинної системи, тону м'язів, ознак токсичного впливу на шлунково-кишковий тракт, діурез, стан шкіри та його придатків. До кінця першого дня після введення та в подальші терміни спостереження (2–14 доба) не було відмічено клінічних ознак токсичності тест-зразка, стан тварин був задовільний.

Не зареєстровано загибелі тварин протягом 14 днів спостереження в жодній експериментальній групі.

У щурів контролювали масу тіла через 3, 7 та 14 днів після в/о введення тест-зразка Lp (NO) (табл. 1). Отримані дані свідчать про те, що одноразове в/о введення досліджуваного тест-зразка Lp (NO) щурам-самцям у дозі 5,0 мл/тварину жодним чином не вплинуло на динаміку маси тіла порівняно з контролем. У щурів-самців на 3 добу після введення було відмічено зменшення маси тіла на 6,1 % порівняно з групою контролю, проте в подальші терміни спостереження дослідні та контрольні тварини набирали вагу відповідно до фізіологічної норми.

Таблиця 1

*Динаміка маси тіла щурів після одноразового внутрішньоочеревинного введення тест-зразка ліпосомальної форми оксиду азоту в максимально допустимому об'ємі (5,0 мл на щура), ( $M \pm m$ )*

Експериментальна група	Доза, мл/тварину	Вихідні дані	Маса тіла, г		
			3 день	7 день	14 день
<i>Самці</i>					
Дослід (тест-зразок ліпосомальної форми оксиду азоту), n = 6	5,0	187,67 ± 2,40	182,0 ± 2,46*	198,50 ± 2,93	201,0 ± 2,89
Контроль (фізіологічний розчин), n = 4	5,0	191,50 ± 3,87	193,83 ± 3,19	206,0 ± 3,91	210,17 ± 4,13
<i>Самиці</i>					
Дослід (тест-зразок ліпосомальної форми оксиду азоту), n = 6	5,0	167,0 ± 3,33	176,83 ± 3,52	183,67 ± 2,80	187,50 ± 3,19
Контроль (фізіологічний розчин), n = 4	5,0	167,0 ± 5,04	169,17 ± 4,85	174,50 ± 4,57	181,17 ± 4,69

Примітка. \* $p < 0,05$  порівняно з контролем, n – кількість тварин у групі.

Абсолютна та відносна маса внутрішніх органів у щурів дослідної групи не зазнавала змін порівняно з даними показниками тварин відповідної контрольної групи.

При зовнішньому огляді тварин ознак патологічних змін їхнього стану не виявлено: шерсть і покрови шкіри чисті, підшкірний шар жирової тканини виражений помірно, на слизових оболонках і шкірі ушкоджень та ознак запалення не спостережено. Очі, ніс, губи, ротова порожнина, анальний отвір і зовнішні статеві органи – нормальної будови. У місці введення тест-зразка Lір (NO) ознак патологічних змін навколишніх тканин не виявлено. Не відмічено при патологоанатомічному розтині альтернативних змін, ознак порушення гемоциркуляції, запалення чи дисрегенераторних явищ.

Токсичність тест-зразка Lір (NO) було досліджено при повторному в/о введенні статевозрілим щурам обох статей протягом 14 днів у 2 дозах: ТД і 5 ТД – щоденно, 1 раз на день. За весь час експерименту не було відзначено загибелі експериментальних тварин. Протягом періоду спостереження (14 днів) усі тварини мали охайний вигляд, були активні, мали рівну блискучу шерсть, шкіру без слідів розчухування, виразкоутворення чи облісіння. Не відмічено ознак токсичної дії тест-зразка Lір (NO) на серцево-судинну систему, шлунково-кишковий тракт, діурез.

Індивідуальну масу тіла тварин реєстрували відразу після отримання, перед рандомізацією та від першого дня введення тест-зразка Lір (NO) 1 раз на тиждень у ранкові часи протягом усього періоду експозиції. Зміни маси тіла розраховували порівняно з масою в день введення (табл. 2).

Статистична обробка результатів зважування щурів показала, що

самиці дослідних і контрольної групи, самці групи контролю та тварини, які отримували тест-зразок Lір (NO) у ТД, набирали вагу відповідно до фізіологічної норми. Щури-самці, яким вводили тест-зразок Lір (NO) в 5 ТД, худнули через 7 днів після повторних уведень порівняно з групою контролю, проте через 14 днів від початку повторних уведень відсутні відмінності маси тварин зазначених груп.

Результати дослідження венозної крові щурів, яким вводили в/о тест-зразок Lір (NO) протягом 14 днів, наведено в таблицях 3 та 4.

Наведені дані свідчать, що в щурів-самиць, яким вводили тест-зразок Lір (NO) у ТД та 5 ТД, кількість лейкоцитів достовірно знижувалась порівняно з контролем. Ці зміни відбулися за рахунок зменшення кількості лімфоцитів:  $(4,70 \pm 0,08) 10^3/\text{мл}$  (контрольна група),  $(3,36 \pm 0,21) 10^3/\text{мл}$  (ТД) і  $(3,78 \pm 0,28) 10^3/\text{мл}$  (5 ТД). Але за аналізу лейкоцитарної формули відсоток лімфоцитів був на рівні контрольної групи, також відмічено достовірне збільшення відсотка базофілів у самиць, які отримували 5 ТД тест-зразка Lір (NO) порівняно з відповідним показником контрольної групи. Це може бути наслідком алергічної реакції на введення тест-зразка Lір (NO). Аналіз показників червоної крові й еритроцитарних індексів дослідних тварин показав незначні, але достовірні зміни, а саме, збільшення кількості еритроцитів, відсотка гематокриту в тварин, які отримували 5 ТД тест-зразка Lір (NO). Відмічено зниження середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті в дослідних тварин, які отримували тест-зразок Lір (NO). Кількість тромбоцитів і тромбоцитарні індекси такі, як середній об'єм тромбоцита, тромбоцит

*Динаміка маси тіла щурів після повторних уведень тест-зразка ліпосомальної форми оксиду азоту протягом 14 днів ( $M \pm m$ ,  $n = 6$ )*

Експериментальна група	Маса тіла, г		
	1 день	7 день	14 день
<i>Самці</i>			
Контроль (фізіологічний розчин)	188,12 ± 1,29	222,87 ± 2,67	238,0 ± 3,62
Терапевтична доза тест-зразка ліпосомальної форми оксиду азоту	189,50 ± 3,71	225,50 ± 3,83	243,0 ± 5,82
5 терапевтичних доз тест-зразка ліпосомальної форми оксиду азоту	182,37 ± 2,67	214,87 ± 1,79*	234,12 ± 2,55
<i>Самиці</i>			
Контроль (фізіологічний розчин)	171,50 ± 3,17	189,75 ± 5,03	193,25 ± 5,10
Терапевтична доза тест-зразка ліпосомальної форми оксиду азоту	169,0 ± 3,0	182,0 ± 3,36	185,75 ± 3,33
5 терапевтичних доз тест-зразка ліпосомальної форми оксиду азоту	173,0 ± 3,58	192,50 ± 3,85	199,0 ± 5,22

*Примітка. Тут і в табл. 3–6: \* $p < 0,05$  порівняно з контролем.*

достовірно збільшені в крові тварин, що отримували 5 ТД тест-зразка Lір (NO). Слід зазначити, що виявлені гематологічні зміни порівняно з показниками тварин контрольної групи не призводили до відхилень від фізіологічної норми для щурів [29]. При аналізі гематологічних показників крові щурів-самців, яким вводили тест-зразок Тут і в табл. 3–6: достовірні зміни відмічені в крові тварин, що отримували 5 ТД: кількість лейкоцитів достовірно збільшувалась порівняно з контролем. Ці зміни відбувалися за рахунок збільшення кількості лімфоцитів: (3,89 ± 0,33) 10<sup>3</sup>/мл (контрольна група),

(5,38 ± 0,58) 10<sup>3</sup>/мл (5 ТД) і базофілів: (0,31 ± 0,04) 10<sup>3</sup>/мл та (0,50 ± 0,08) 10<sup>3</sup>/мл відповідно, проте необхідно зазначити, що лейкоцитарна формула не зазнала змін порівняно з контрольною групою.

Аналіз показників червоної крові й еритроцитарних індексів дослідних тварин показав незначні, але достовірні зміни, а саме: збільшення кількості еритроцитів, відсотка гематокриту, середнього об'єму еритроцита, зменшення середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті, середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті, відносної ширини розподілу еритроцитів за об'ємом (коефіцієнт

*Гематологічні показники крові щурів-самиць за повторних уведенень тест-зразка ліпосомальної форми оксиду азоту протягом 14 днів ( $M \pm m$ ,  $n = 6$ )*

Показник	Експериментальна група (самиці)		
	контроль	терапевтична доза, 10 мг/кг	5 терапевтичних доз, 50 мг/кг
Лейкоцити, $10^3$ /мл	6,81 $\pm$ 0,12	5,28 $\pm$ 0,22*	5,95 $\pm$ 0,35*
Лімфоцити, %	69,03 $\pm$ 0,89	64,09 $\pm$ 2,44	63,60 $\pm$ 3,48
Моноцити, %	4,43 $\pm$ 0,43	5,86 $\pm$ 0,87	4,41 $\pm$ 0,56
Нейтрофіли, %	22,08 $\pm$ 1,11	24,06 $\pm$ 1,82	25,74 $\pm$ 2,63
Еозинофіли, %	0,44 $\pm$ 0,11	1,28 $\pm$ 0,46	0,60 $\pm$ 0,09
Базофіли, %	4,04 $\pm$ 0,17	4,71 $\pm$ 0,43	5,65 $\pm$ 0,47*
Лімфоцити, $10^3$ /мл	4,70 $\pm$ 0,08	3,36 $\pm$ 0,21*	3,78 $\pm$ 0,28*
Моноцити, $10^3$ /мл	0,30 $\pm$ 0,30	0,29 $\pm$ 0,04	0,28 $\pm$ 0,04
Нейтрофіли, $10^3$ /мл	1,45 $\pm$ 0,80	1,28 $\pm$ 0,11	1,55 $\pm$ 0,23
Еозинофіли, $10^3$ /мл	0,013 $\pm$ 0,013	0,04 $\pm$ 0,03	0,03 $\pm$ 0,02
Базофіли, $10^3$ /мл	0,26 $\pm$ 0,02	0,26 $\pm$ 0,03	0,31 $\pm$ 0,04
Еритроцити, $10^6$ /мл	7,42 $\pm$ 0,12	7,58 $\pm$ 0,10	7,82 $\pm$ 0,08*
Гемоглобін, г/дл	14,26 $\pm$ 0,24	14,35 $\pm$ 0,17	14,76 $\pm$ 0,17
Гематокрит, %	37,06 $\pm$ 0,64	38,10 $\pm$ 0,36	39,21 $\pm$ 0,47*
Середній об'єм еритроцита, фл	49,94 $\pm$ 0,16	50,30 $\pm$ 0,54	46,36 $\pm$ 3,88
Середній уміст гемоглобіну в еритроциті, пг	19,23 $\pm$ 0,04	18,94 $\pm$ 0,18	18,88 $\pm$ 0,19
Середня концентрація гемоглобіну в еритроциті, г/дл	38,48 $\pm$ 0,19	37,65 $\pm$ 0,18*	37,66 $\pm$ 0,17*
Відносна ширина розподілу еритроцитів за об'ємом, коефіцієнт варіації, %	13,60 $\pm$ 0,26	13,40 $\pm$ 0,16	13,65 $\pm$ 0,15
Відносна ширина розподілу еритроцитів за об'ємом, стандартне відхилення, фл	24,18 $\pm$ 0,62	23,44 $\pm$ 0,36	23,88 $\pm$ 0,34
Тромбоцити, $10^3$ /мл	606,63 $\pm$ 6,16	723,13 $\pm$ 96,20	697,0 $\pm$ 22,68*
Середній об'єм тромбоцита, фл	6,08 $\pm$ 0,07	6,16 $\pm$ 0,05	6,29 $\pm$ 0,05*
Тромбокрит, %	0,370 $\pm$ 0,002	0,44 $\pm$ 0,06	0,44 $\pm$ 0,01*
Відносна ширина розподілу тромбоцитів за об'ємом, %	11,24 $\pm$ 1,12	12,40 $\pm$ 0,61	12,96 $\pm$ 0,55
Коефіцієнт великих тромбоцитів, %	2,35 $\pm$ 0,19	2,46 $\pm$ 0,22	2,85 $\pm$ 0,26

*Гематологічні показники крові щурів-самців за повторних уведень тест-зразка ліпосомальної форми оксиду азоту протягом 14 днів ( $M \pm m$ ,  $n = 6$ )*

Показник	Екпериментальна група (самці)		
	контроль	терапев- тична доза, 10 мг/кг	5 терапев- тичних доз, 50 мг/кг
Лейкоцити, $10^3$ /мл	5,83 ± 0,36	7,84 ± 0,55*	8,31 ± 1,07*
Лімфоцити, %	65,85 ± 3,20	62,11 ± 3,26	66,05 ± 2,03
Моноцити, %	3,99 ± 0,47	5,38 ± 0,82	5,74 ± 1,46
Нейтрофіли, %	24,26 ± 2,38	27,23 ± 2,47	22,24 ± 1,47
Еозинофіли, %	0,54 ± 0,04	0,54 ± 0,11	0,33 ± 0,09
Базофіли, %	5,45 ± 0,39	4,66 ± 0,34	5,65 ± 0,30
Лімфоцити, $10^3$ /мл	3,89 ± 0,33	4,81 ± 0,33	5,38 ± 0,58*
Моноцити, $10^3$ /мл	0,21 ± 0,02	0,46 ± 0,08*	0,56 ± 0,24
Нейтрофіли, $10^3$ /мл	1,39 ± 0,11	2,16 ± 0,31*	1,86 ± 0,26
Еозинофіли, $10^3$ /мл	0 ± 0	0,03 ± 0,02	0 ± 0
Базофіли, $10^3$ /мл	0,31 ± 0,04	0,38 ± 0,05	0,50 ± 0,08*
Еритроцити, $10^6$ /мл	7,55 ± 0,18	8,48 ± 0,10*	8,60 ± 0,22*
Гемоглобін, г/дл	14,68 ± 0,16	15,26 ± 0,24	15,44 ± 0,40
Гематокрит, %	38,16 ± 0,42	47,51 ± 0,68*	45,85 ± 1,25*
Середній об'єм еритроцита, фл	50,86 ± 0,88	56,03 ± 0,59*	53,31 ± 0,35*
Середній уміст гемоглобіну в еритроциті, пг	19,56 ± 0,34	17,99 ± 0,24*	17,95 ± 0,13*
Середня концентрація гемоглобіну в еритроциті, г/дл	38,46 ± 0,15	32,14 ± 0,09*	33,68 ± 0,08*
Відносна ширина розподілу еритроцитів за об'ємом, коефіцієнт варіації, %	15,44 ± 0,14	13,96 ± 0,23*	13,91 ± 0,15*
Відносна ширина розподілу еритроцитів за об'ємом, стандартне відхилення, фл	27,89 ± 0,46	29,21 ± 0,48	28,63 ± 0,60
Тромбоцити, $10^3$ /мл	614,50 ± 18,28	687,13 ± 46,77	620,38 ± 37,56
Середній об'єм тромбоцита, фл	6,26 ± 0,05	6,24 ± 0,08	6,14 ± 0,06
Тромбокрит, %	0,39 ± 0,01	0,43 ± 0,03	0,38 ± 0,03
Відносна ширина розподілу тромбоцитів за об'ємом, %	14,09 ± 1,22	12,45 ± 0,51	16,76 ± 0,74
Коефіцієнт великих тромбоцитів, %	2,44 ± 0,12	2,19 ± 0,12	2,63 ± 0,26

варіації). Кількість тромбоцитів і тромбоцитарні індекси не зазнали змін порівняно з контрольною групою. Слід зазначити, що виявлені гематологічні зміни порівняно з показниками тварин контрольної групи не призводили до відхилень від фізіологічної норми для щурів [29].

Таким чином, дослідження гематологічних показників крові щурів обох статей, яким вводили тест-зразок Lip (NO) у ТД та 5 ТД протягом 14 днів в/о, не виявило негативного впливу на показники червоної крові, еритроцитарні індекси, кількість лейкоцитів, тромбоцитів, тромбоцитарні індекси. Зміни лейкоцитарної формули в крові щурів-самиць за рахунок збільшення відсотка базофілів можуть бути зумовлені алергічною реакцією.

У таблицях 5 і 6 наведені дані дослідження біохімічних показників сироватки крові самиць і самців щурів за умов повторних уведень тест-зразка Lip (NO) відповідно.

Звертає на себе увагу статистично значиме зростання вмісту креатиніну в сироватці крові тварин обох статей, яким вводили тест-зразок Lip (NO) у досліджених дозах, у середньому на 26 % (самиці) та 40 % (самці) відповідно порівняно з контролем. Креатинін є стійкою азотистою складовою крові, незалежною від більшості харчових продуктів, навантажень, циркадних ритмів або інших біологічних констант, і пов'язаний з метаболізмом у м'язах. Порушення функції нирок призводить до зниження екскреції креатиніну та зумовлює підвищення його рівня в сироватці. Таким чином, концентрація креатиніну є характеристикою клубочкової фільтрації, а креатинін є більш специфічним і більш чутливим показником функції нирок, на відміну від сечовини [30].

Водночас виявлено залежний від дози вплив тест-зразка Lip (NO) на вміст ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ). У сироватці крові щурів як самиць, так і самців, що отримували тест-зразок Lip (NO) у 5 ТД, цей показник зростав на 35 % порівняно з контролем. Зростання рівня ЛПНЩ може, зокрема, відзначатись за умов споживання дієти з високим вмістом холестерину та насичених жирів (варто враховувати введення ліпосомальної форми тест-зразка Lip (NO)), а також при нефротичному синдромі та хронічній нирковій недостатності (варто звернути увагу на одночасне зростання рівня креатиніну) [30].

Інші біохімічні показники сироватки крові тварин, що отримували тест-зразок Lip (NO) в обох досліджених дозах, в основному не відрізнялись від контролю, або, якщо й мали статистично значимі відмінності, то вони не виходили за межі фізіологічної норми для щурів-самців відповідно до їхнього віку [29].

Досліджували сечу, зібрану протягом ночі, у щурів обох статей, яким вводили в/о протягом 14 днів тест-зразок Lip (NO) у ТД і 5 ТД. Сеча в більшості випадків була прозорою та забарвленою в світло-жовтий колір. Такі показники, як об'єм сечі (нічний діурез) та питома вага у тварин усіх експериментальних груп не відрізнялись від таких у відповідних групах контролю та були в межах фізіологічної норми для щурів [31]. У тварин усіх експериментальних груп рН сечі була нейтральною, а такі показники сечі, як нітрити, глюкоза, кетони та кров були відсутні. Білірубін у невеликій кількості спостерігали в тварин усіх груп, включаючи контрольну. У сечі щурів-самиць усіх експериментальних груп і щурів-самців, які отримували тест-зразок Lip (NO) у ТД,

*Біохімічні показники сироватки крові щурів-самиць за повторних уведеннь тест-зразка ліпосомальної форми оксиду азоту протягом 14 днів (M ± m, n = 6)*

Показник	Екпериментальна група (самиці)		
	контроль	терапев- тична доза, 10 мг/кг	5 терапев- тичних доз, 50 мг/кг
Уміст альбуміну, г/л	37,16 ± 0,55	35,58 ± 1,14	38,02 ± 0,76
Уміст загального білка, г/л	68,78 ± 1,55	67,71 ± 1,07	69,91 ± 1,30
Уміст загального білірубіну, мкмоль/л	3,02 ± 0,19	3,45 ± 0,21	4,14 ± 0,25*
Уміст прямого білірубіну, мкмоль/л	1,84 ± 0,10	1,75 ± 0,13	1,86 ± 0,19
Уміст загального холестерину, ммоль/л	1,35 ± 0,06	1,29 ± 0,10	1,66 ± 0,15
Уміст глюкози, ммоль/л	7,70 ± 0,08	8,3 ± 0,42	8,01 ± 0,38
Уміст креатиніну, ммоль/л	52,67 ± 1,52	66,13 ± 1,08*	66,75 ± 1,10*
Уміст сечової кислоти, ммоль/л	203,75 ± 8,96	224,88 ± 15,19	224,12 ± 6,94
Уміст сечовини, ммоль/л	7,83 ± 1,20	8,73 ± 0,38	7,40 ± 0,36
Уміст тригліцеридів, ммоль/л	0,89 ± 0,07	0,55 ± 0,02*	0,61 ± 0,05*
Активність аланінамінотрансферази, Од/л	48,88 ± 3,53	27,26 ± 0,62*	31,15 ± 1,63*
Активність аспартатамінотрансферази, Од/л	176,70 ± 8,59	162,54 ± 16,52	160,46 ± 5,81
Активність амілази, Од/л	1080,88 ± 51,86	738,0 ± 32,76*	834,50 ± 43,65*
Активність лактатдегідрогенази, Од/л	829,25 ± 102,12	867,13 ± 141,20	829,50 ± 110,75
Активність лужної фосфатази, Од/л	126,18 ± 7,31	121,34 ± 29,13	97,92 ± 7,34
Уміст хлоридів, ммоль/л	102,25 ± 0,49	101,10 ± 0,61	103,29 ± 0,83
Уміст фосфору, ммоль/л	1,86 ± 0,07	1,62 ± 0,12	1,68 ± 0,09
Уміст ліпопротеїнів високої щільності, ммоль/л	1,0 ± 0,05	1,09 ± 0,10	1,22 ± 0,09
Уміст ліпопротеїнів низької щільності, ммоль/л	0,31 ± 0,02	0,28 ± 0,02	0,42 ± 0,04*
Ліпопротеїни високої щільності / ліпопротеїни низької щільності	3,22 ± 0,17	3,96 ± 0,42	2,98 ± 0,20

*Біохімічні показники сироватки крові щурів-самців за повторних уведень  
тест-зразка ліпосомальної форми оксиду азоту протягом 14 днів  
( $M \pm m$ ,  $n = 6$ )*

Показник	Екпериментальна група (самці)		
	контроль	терапев- тична доза, 10 мг/кг	5 терапев- тичних доз, 50 мг/кг
Уміст альбуміну, г/л	33,73 ± 0,31	32,98 ± 0,73	33,69 ± 0,54
Уміст загального білка, г/л	61,56 ± 0,84	62,96 ± 0,64	65,34 ± 0,99*
Уміст загального білірубину, мкмоль/л	3,02 ± 0,19	3,45 ± 0,21	4,14 ± 0,25*
Уміст прямого білірубину, мкмоль/л	1,69 ± 0,15	1,58 ± 0,18	1,31 ± 0,24
Уміст загального холестерину, ммоль/л	1,83 ± 0,10	1,59 ± 0,07	2,18 ± 0,16
Уміст глюкози, ммоль/л	8,73 ± 0,41	9,88 ± 0,44	9,55 ± 0,43
Уміст креатиніну, ммоль/л	43,17 ± 1,08	61,38 ± 1,02*	60,63 ± 1,19*
Уміст сечової кислоти, ммоль/л	217,25 ± 8,03	263,50 ± 7,20*	216,75 ± 6,82
Уміст сечовини, ммоль/л	4,46 ± 0,23	7,29 ± 0,22*	6,01 ± 0,19*
Уміст тригліцеридів, ммоль/л	0,76 ± 0,09	0,53 ± 0,06	0,61 ± 0,05
Активність аланінамінотрансферази, Од/л	43,75 ± 4,57	37,15 ± 2,43	34,55 ± 2,97
Активність аспартатамінотрансферази, Од/л	137,04 ± 5,58	146,35 ± 5,83	133,64 ± 4,70
Активність амілази, Од/л	1350,88 ± 46,24	996,0 ± 41,41*	959,75 ± 74,99*
Активність лактатдегідрогенази, Од/л	1204,63 ± 97,14	1044,38 ± 138,65	1375,75 ± 103,0
Активність лужної фосфатази, Од/л	227,43 ± 20,64	238,33 ± 41,84	229,31 ± 26,42
Уміст хлоридів, ммоль/л	100,64 ± 0,53	100,45 ± 0,51	99,73 ± 0,61
Уміст фосфору, ммоль/л	1,99 ± 0,08	1,94 ± 0,07	1,94 ± 0,09
Уміст ліпопротеїнів високої щільності, ммоль/л	1,07 ± 0,05	1,07 ± 0,05	1,22 ± 0,11
Уміст ліпопротеїнів низької щільності, ммоль/л	0,45 ± 0,03	0,38 ± 0,02	0,61 ± 0,03*
Ліпопротеїни високої щільності / ліпопротеїни низької щільності	2,40 ± 0,11	2,84 ± 0,16*	2,03 ± 0,21

відсутні лейкоцити та уробіліноген. За повторних уведень тест-зразка Lir (NO) в 5 ТД в одного щура з шести в сечі відмічено незначне збільшення кількості лейкоцитів (10–25) і в двох тварин дещо підвищувався вміст уробіліногену.

У нормі для щурів через нирковий бар'єр проходить незначна кількість білків, тому для всіх досліджуваних груп тварин, зокрема й контрольних, відмічали наявність білка в сечі, а саме: у кількох тварин усіх експериментальних груп уміст білка присутній у межах від 0,3 до 30 мг/дл, тобто, у межах фізіологічної норми для щурів [31]. Отже, дослідження сечі за повторних уведень ТД і 5 ТД тест-зразка Lir (NO) свідчить про відсутність токсичного ураження нирок. За результатами аналізу сечі (колір, об'єм, питома вага, рН; відсутність або наявність на рівні нормальних фізіологічних значень нітритів, глюкози, кетонів, білка, лейкоцитів, уробіліногену та крові) не виявлено порушень функціонального стану нирок піддослідних тварин.

Проведено зважування маси тварин та їхніх органів, обчислення масових коефіцієнтів внутрішніх органів і головного мозку контрольних і дослідних тварин. Як свідчать отримані дані, відносна маса внутрішніх органів у щурів обох статей дослідних груп, які отримували ТД тест-зразка Lir (NO) і 5 ТД протягом 14 днів, не зазнала змін порівняно з відносною масою внутрішніх органів щурів контрольних груп.

При гістологічному вивченні органів, незалежно від статевої належності тварин, структурних змін, а також гемодинамічних порушень не виявлено. Морфометричні та морфологічні дані загалом вказують на те, що при в/о введенні тест-зразка Lir (NO) в

ТД та 5 ТД протягом 14 днів у досліджуваних органах не виявлено змін структурних та інтегральних показників порівняно з аналогічними контрольних тварин, що свідчить про відсутність побічної дії тест-зразка. Слід відмітити, що в щурів обох статей при застосуванні ТД і більшою мірою при введенні 5 ТД кількість «темних» гепатоцитів у паренхімі печінки зростала. Ці морфологічні дані можуть свідчити про ознаки посилення функціональної активності окремих гепатоцитів.

## Висновки

1. Встановлено, що тест-зразок Lir (NO), який уведений одноразово в/о білим щурам обох статей у максимально допустимому об'ємі (5,0 мл на 1 щура) та 90 мг/кг (за фосфатидилхоліном), не викликає загибель тварин, клінічних ознак токсичності, зменшення маси тіла, патологічних змін внутрішніх органів і головного мозку, ознак запалення та порушень гемодинаміки на кінець періоду спостереження (14 доба) порівняно з групою контролю.
2. Протягом 14 днів спостережень за повторних в/о введеннях тест-зразка Lir (NO) у ТД і 5 ТД не було відмічено загибелі та значимих відхилень у загальному стані, контролі ваги щурів обох статей усіх експериментальних груп, не виявлено негативного впливу на показники червоної крові, еритроцитарні індекси, кількість лейкоцитів, тромбоцитів, тромбоцитарні індекси, та, в основному, не відмічено змін клінічних біохімічних показників сироватки крові. Але за введення тест-зразка Lir (NO) в обох дозах відзначали збільшення вмісту креатиніну в середньому на 26 % (самиці) і 40 % (самці) відповідно

порівняно з контролем та ЛПНЩ у середньому на 35,5 % – за введення 5 ТД. За результатами аналізу сечі (колір, об'єм, питома вага, рН; відсутність або наявність на рівні нормальних фізіологічних значень нітритів, глюкози, кетонів, білка, лейкоцитів, уробіліногену та крові) не виявлено порушень функціонального стану нирок піддослідних тварин, а також макро- та мікроскопічних

змін основних інтегральних показників, гемодинамічних порушень, запальної реакції та дистрофічних ушкоджень внутрішніх органів і тканин.

3. Отримані результати дослідження свідчать про доцільність проведення подальшого вивчення фармакологічних властивостей і терапевтичної ефективності нового засобу «Ліпосомальна форма оксиду азоту, ліофілізат для приготування емульсії».

1. Vanhoutte P. M. Endothelium and control of vascular function. *Hypertension*. 1989. V.13. P. 658–667.
2. Tibballs J. The role of nitric oxide (formerly endothelium-derived relaxing factor-EDRF) in vasodilatation and vasodilator therapy. *Anaesth. Intensive Care*. 1993. V. 21, No. 6. P. 759–773.
3. Garthwaite J. Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Trends Neurosci*. 1991. V. 14. P. 60–67.
4. Mollace V., Bagetta G., Nistico G. Evidence that L-arginine possesses proconvulsant effects mediated through nitric oxide. *Neuroreport*. 1991. V. 2. P. 269–272.
5. Bath P. M., Krishnan R., Appleton J. P. Nitric oxide donors (nitrates), L-arginine, or nitric oxide synthase inhibitors for acute stroke. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2017. V. 4 (4). P. CD000398. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD000398.pub2>.
6. Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolaemic patients by L-arginine. H. Drexler, A. M. Zeiher, K. Meinzer, H. Just. *Lancet*. 1991. V. 338. P. 1546–1550.
7. Myocardial reoxygenation injury after ischaemia is mediated by the L-arginine: nitric oxide pathway. G. D. Buckberg, G. Matheis, M. P. Sherman et al. In: S. Moncada, M. A. Marletta, J. B. Jr. Hibbs, E. A. Higgs, eds. *The biology of nitric oxide*. V. 1. London : Portland Press, 1992. P. 52–54.
8. Мойбенко А. А., Павлюченко В. Б., Даценко В. В. Роль оксида азота в регуляторной саморегуляции кровообращения. *Достижения биологии та медицини*. 2003. Т. 1, № 1. С. 72–79.
9. Effects of inhibition of the L-arginine/nitric oxide pathway in the rat lower urinary tract in vivo and in vitro. K. Persson, Y. Igawa, A. Mattiasson, K. E. Andersson. *Br. J. Pharmacol*. 1992. V. 107. P. 178–184.
10. Mearin F., Mourelle M., Guarner F. Patients with achalasia lack nitric oxide synthase in the gastrooesophageal function. *Eur. J. Clin. Invest*. 1993. V. 23. P. 724–728.
11. Elnaggar M. A. Lipid-based carriers for controlled delivery of nitric oxide. M. A. Elnaggar, R. Subbiah, D. K. Han, Y. K. Joung. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2017. V. 14, No. 12. P. 1341–1353.
12. Miller M. R., Megson I. L. Recent developments in nitric oxide donor drugs. *Br. J. Pharmacol*. 2007, V. 151. P. 305–321.
13. Cytochrome c oxidase and nitric oxide in action: molecular mechanisms and pathophysiological implications. P. Sarti, E. Forte, D. Mastronicola et al. *Biochim. Biophys. Acta*. 2012. V. 1817. P. 610–619.
14. Griffiths M. J., Evans T. W. Inhaled nitric oxide therapy in adults. *Engl. J. Med*. 2005. V. 353. P. 2683–2695.
15. Nitric oxide-releasing polymeric materials for antimicrobial applications: a review. F. Rong, Y. Tang, T. Wang et al. *Antioxidants (Basel)*. 2019. V. 8. P. 556.
16. Pieretti J. C., Seabra A. B. In: *Nanotechnology in skin, soft tissue, and bone infections* (Ed: M. Rai). Springer International Publishing, Cham, 2020. Chapter 1.
17. PEGylation as a strategy for improving nanoparticle-based drug and gene delivery. J. S. Suk, Q. Xu, N. Kim, J. Hanes. *Adv. Drug Deliv. Rev*. 2016. V. 99. P. 28–51.
18. Well-defined bifunctional dendrimer bearing 54 nitric oxide-releasing moieties and 54 ursodeoxycholic acid groups presenting high anti-inflammatory. A. M. Garzon-Porras, D. L. Bertuzzi, K. Lucas, C. Ornelas. *Sci. Eng. 2022*. V. 8. P. 5171–5187.
19. Designed fabrication of silica-based nanostructured particle systems for nanomedicine applications. Y. Piao, A. Burns, J. Kim et al. *Adv. Funct. Mater*. 2008. V. 18. P. 3745–3758.

- 
- 
20. Pissuwan D., Niidome T., Cortie M. B. The forthcoming applications of gold nanoparticles in drug and gene delivery systems. *J. Controlled Release*. 2011. V. 149. P. 65–71.
  21. Bhowmick D., Mughesh G. Insights into the catalytic mechanism of synthetic glutathione peroxidase mimetics. *Organic and Biomolecular Chemistry*. 2015. V. 13. P. 10262–10272.
  22. Nitric oxide producing coating mimicking endothelium function for multifunctional vascular stents. Z. Yang, Y. Yang, K. Xiong et al. *Biomaterials*. 2015. V. 63. P. 80–92.
  23. Nitric oxide loaded echogenic liposomes for nitric oxide delivery and inhibition of intimal hyperplasia. S-L. Huang, P. H. Kee, H. Kim et al. *Journal of the American College of Cardiology*. 2009. V. 54, No. 7. P. 652–659.
  24. A novel liposomal nanomedicine for nitric oxide delivery and breast cancer treatment. S. Y. Lee, Y. Rim, D. D. McPherson et al. *Bio-Medical Materials and Engineering*. 2014. V. 24, No. 1. P. 61–67.
  25. Про затвердження порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів: наказ МОЗ України від 14.12.2009 № 944. *Офіційний вісник України*. 2010. № 4. С. 61. стаття 176.
  26. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Відомості Верховної Ради України. Офіц. вид. 2006. № 27. С. 990, стаття 230. (Бібліотека офіційних видань).
  27. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg, 1986. ETS No. 123. URL: <https://rm.coe.int/168007a67b>.
  28. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації; за ред. О. В. Стефанова. Київ : ВД «Авіцена», 2001. 528 с.
  29. Giknis M. L. A., Clifford. C. B. Clinical laboratory parameters for CrI: WI (Han). Charles River Laboratories. 2008. URL: [www.criver.com/SiteCollectionDocuments/](http://www.criver.com/SiteCollectionDocuments/).
  30. Лабораторный справочник СИНЭВО; ред. О. В. Небыльцова. Киев : ООО «Доктор-Медиа», 2011. 420 с.
  31. Проблема нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы). И. М. Трахтенберг, Р. Е. Сова, В. О. Шефтель, Ф. А. Оникиенко; ред. И. М. Трахтенберг. М. : Медицина, 1991. 208 с.

**Л. В. Бойцова, Г. М. Шаяхметова, А. В. Матвієнко, В. М. Непомнящий, О. С. Хромов, А. І. Соловйов**

### **Оцінка токсикологічних властивостей ліпосомальної форми оксиду азоту**

Численні патологічні процеси, такі як гіпертонія, атеросклероз, порушення кровотоку в центральній нервовій системі та нездатність до судинного ремоделювання, викликані недостатністю ендогенного синтезу / вивільнення оксиду азоту (NO). У таких випадках додаткове введення NO може бути дуже ефективною стратегією в лікуванні захворювань, які пов'язані з зазначеними патологічними процесами. Експериментальний фармацевтичний засіб «Ліпосомальна форма оксиду азоту, ліофілізат для приготування емульсії» (Lip (NO)) був розроблений для проведення доклінічних досліджень його специфічної активності та безпеки.

Важливим етапом у комплексному доклінічному дослідженні нових потенційних лікарських засобів є вивчення їхніх токсикологічних параметрів.

*Мета дослідження* – експериментальне вивчення токсикологічних властивостей нового фармакологічного засобу – ліпосомальної форми NO для обґрунтування безпеки при застосуванні в клінічній практиці.

Дослідження гострої токсичності проводили на білих нелінійних щурах обох статей масою тіла 160–180 г. Одноразове внутрішньоочеревинне (в/о) введення Lip (NO) білим щурам обох статей у максимально допустимому об'ємі (5,0 мл на 1 щура) та 90 мг/кг (за фосфатидилхоліном) не викликає загибелі тварин, клінічних ознак токсичності, зменшення маси тіла, патологічних змін внутрішніх органів і головного мозку, ознак порушень гемоциркуляції та запалення на кінець періоду спостереження (14 доба) порівняно з групою контролю.

За умов повторних в/о введення щурам обох статей протягом 14 днів Lip (NO) у терапевтичній дозі та дозі, що перевищує терапевтичну в 5 разів, не було відмічено загибелі та значимих відхилень у загальному стані, контролі ваги щурів усіх експериментальних груп.

Не виявлено негативного впливу на гематологічні показники периферичної крові, порушень основних ланок метаболізму, а також змін структурно-функціональних властивостей печінки і нирок за межі фізіологічної норми. Але за введення тест-зразка Lip (NO) в обох дозах відзначали зростання вмісту креатиніну в середньому на 26 % (самиці) та 40 % (самці) відповідно порівняно з контролем і ліпопротеїнів низької щільності в середньому на 35,5 % – за введення в дозі, яка перевищує терапевтичну в 5 разів. За цих умов не виявлено макро- і мікроскопічних змін основних інтегральних показників, гемодинамічних порушень, запальної реакції та дистрофічних ушкоджень внутрішніх органів і тканин.

---

Таким чином, отримані результати дослідження свідчать про доцільність і перспективність проведення подальшого вивчення фармакологічних властивостей і терапевтичної ефективності нового засобу «Ліпосомальна форма оксиду азоту, ліофілізат для приготування емульсії».

*Ключові слова:* ліпосомальна форма оксиду азоту, гостра токсичність, токсичність при повторних уведеннях, щури, клініко-лабораторні дослідження

**L. V. Boitsova, G. M. Shayakhmetova, A. V. Matvienko, V. M. Nepomnyaschy, O. S. Khromov, A. I. Soloviev**

### **Evaluation of toxicological properties of nitric oxide liposomal form**

Numerous pathological processes, such as hypertension, atherosclerosis, impaired blood flow in the central nervous system, and inability to vascular remodeling, are caused by a deficiency of endogenous synthesis / release of nitric oxide (NO). In such cases, additional administration of NO can be a very effective strategy in the treatment of diseases associated with the mentioned pathological processes. The experimental pharmaceutical agent "Liposomal form of nitric oxide, lyophilisate for emulsion preparation" (Lip (NO)) was developed for preclinical studies of its specific activity and safety. The comprehensive study of toxicological parameters of new potential drugs is an important stage in their preclinical evaluation.

*The purpose of the study* is to conduct an experimental assessment of the new pharmacological agent Lip (NO) toxicological properties to substantiate its safety when used in clinical practice.

Acute toxicity studies were conducted on white non-linear rats of both sexes weighing 160–180 g. A single intraperitoneal injection of Lip (NO) to white rats of both sexes in the maximum permissible volume (5.0 ml per 1 rat) and 90 mg/kg (in terms of phosphatidylcholine) did not cause animal death, clinical signs of toxicity, decrease in body weight, pathological changes in internal organs and the brain, signs of hemodynamic disorders and inflammation at the end of the observation period (14 days) compared to the control group.

Under conditions of repeated intraperitoneal administration of Lip (NO) to rats of both sexes for 14 consecutive days at a therapeutic dose and a dose exceeding the therapeutic one by fivefold, no mortality or significant deviations in general condition or body weight were observed in any of the experimental groups.

No adverse effects were found on hematological parameters of peripheral blood, major metabolic pathways, or the structural and functional characteristics of the liver and kidneys beyond physiological limits. However, administration of the test sample at both doses resulted in an average increase in creatinine levels by 26% (females) and 40% (males) compared to controls, and an average increase in LDL by 35.5% following administration of the fivefold therapeutic dose. Under these conditions, no macro- or microscopic alterations were observed in the main integral indicators, hemodynamic parameters, or signs of inflammatory or dystrophic damage to internal organs and tissues.

Thus, the results obtained indicate the feasibility and promise of further research the pharmacological properties and therapeutic efficacy of the Lip (NO).

*Key words:* liposomal form of nitric oxide, acute toxicity, repeated dose toxicity, rats, clinical and laboratory studies

---

Надійшла: 16 жовтня 2025 р.

Прийнята до друку: 18 листопада 2025 р.

---

**Контактна особа:** Бойцова Людмила Василівна, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 02 88. Електронна пошта: ludmila.boitsova@gmail.com