

УДК 615.281.9 : 615.015.35

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТОВ НИФУРОКСАЗИДА В ФОРМЕ СУСПЕНЗИИ

Е.А. Ситникова¹,
Е.П. Рогожникова¹,
С.Г. Марданлы²,
В.А. Киселева²

¹ЗАО «ЭКОлаб», 142530, Московская обл., г. Электрогорск, Российская Федерация
²ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет», 142611, Московская обл., г. Орехово-Зуево, Российская Федерация

Проведено сравнительное исследование острой токсичности препаратов Нифуроксазида в форме суспензии. Под наблюдением находились половозрелые особи белых мышей и крысы обоего пола. Крысы массой 160–180 г в возрасте 13–14 недель; мыши массой 18–20 г в возрасте 8–9 недель. Период наблюдения составлял 14 суток. Введение сравниваемых суспензий осуществляли в возрастающих дозах по Литчфилду-Уилкоксоу. Дозирование осуществлялось объемом на общую массу суспензии. Регистрируемые показатели: летальность, время гибели животных, симптоматика отравления, ежедневное наблюдение общего состояния и поведения, взвешивание, вскрытие, описание животных, определение коэффициентов массы внутренних органов.

Близость обоих испытанных препаратов по показателям острой токсичности, одинаковая картина интоксикации, отсутствие признаков поражений внутренних органов позволяет заключить, что лекарственные формы препарата МНН Нифуроксазид («Нифуроксазид», суспензия для приема внутрь 200 мг/5 мл, ЛП 004858 от 23.05.2018 г. и «Энтерофурил®», суспензия для приема внутрь 200 мг/5 мл П N014624/02 от 06.11.2008 г.) по показателям острой токсичности являются эквивалентными, относятся к VI классу относительно безвредных лекарственных веществ.

Ключевые слова: острая токсичность, нифуроксазид, доклинические исследования.

Введение. Острые кишечные инфекции прочно удерживают одно из первых мест по распространенности. По данным ВОЗ, ежегодно в мире регистрируется более 4 миллиардов случаев острой кишечной инфекции (ОКИ), что составляет 11 миллионов в день. В России удельный вес вирусных диарей в общей структуре заболеваемости ОКИ у детей составляет от 18–24% в летнее время и до 70–78% в осенне-зимне-весенний период [1]. Около 5 миллионов детей ежегодно умирает от острых проявлений диареи или ее осложнений [2].

В связи с этим становится актуальным создание эффективного и безопасного препарата, оказывающего прямое антибактериальное действие на возбудителей кишечных инфекций и активные условно-патогенные микроорганизмы.

В соответствии с действующими требованиями [3] для регистрации лекарственных средств необ-

ходимо представить результаты сравнительного изучения острой токсичности воспроизведенного препарата и зарегистрированного аналога.

Работа по изучению острой токсичности была выполнена в ФГУН «Институт токсикологии» ФМБА России, г. Санкт-Петербург по заказу фармацевтического предприятия ЗАО «ЭКОлаб». Объем доклинических испытаний определялся действующими нормативными документами [3,4,5].

Целью настоящего исследования явилось проведение доклинических исследований лекарственных препаратов для медицинского применения МНН Нифуроксазид с целью сравнительного изучения острой токсичности воспроизведенного препарата и зарегистрированного референта.

Материалы и методы исследования. Было проведено экспериментальное сравнительное исследование острой токсичности воспроизведенного

Ситникова Елена Анатольевна (Sitnikova Elena Anatol'evna), магистр химии, заместитель директора научно производственного отдела готовых лекарственных средств ЗАО «ЭКОлаб», SPIN-код 3619-8852, AuthorID: 969928, lalobai@yandex.ru

Рогожникова Елена Петровна (Rogozhnikova Elena Petrovna), директор научно производственного отдела готовых лекарственных средств ЗАО «ЭКОлаб», SPIN-код: 5181-6046, AuthorID: 994451, ekolab-rogozhnikova@mail.ru

Марданлы Сейфаддин Гашимович (Mardanly Sejfaddin Gashimovich), д.м.н., профессор кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет», orcid.org/0000-0002-4556-135X, SPIN-код: 8284-0411, AuthorID: 772550, ekolab-president@mail.ru

Киселева Валентина Алексеевна (Kiseleva Valentina Alekseevna), к.м.н., доцент, декан фармацевтического факультета, ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет», SPIN-код: 3412-2916, AuthorID: 342898, farmmgogi@mail.ru, farmmgogi@mail.ru

препарата МНН Нифуроксазид («Нифуроксазид», суспензия для приема внутрь 200 мг/5 мл, ЛП 004858 от 23.05.2018 г.) в сравнении с препаратом-референтом МНН Нифуроксазид («Энтерофурил®», суспензия для приема внутрь 200 мг/5 мл П N014624/02 от 06.11.2008 г.).

Эксперименты были поставлены на половозрелых белых мышах и крысах обоего пола разведки питомника РАМН «Рапполово», Ленинградская область. Крысы массой 160–180 г в возрасте 13–14 недель; мыши массой 18–20 г в возрасте 8–9 недель.

Животные распределялись по группам случайным образом методом рандомизации. В качестве критериев приемлемости рандомизации считали отсутствие внешних признаков заболеваний и гомогенность групп по весу тела ($\pm 10\%$).

Введение сравниваемых суспензий осуществляли через металлический атравматичный зонд в возрастающих дозах по Литчфилду-Уилкоксоу. Дозирование осуществлялось объемом на общую массу суспензии. При этом условно принимали 1 мл суспензии равным 1 г. Для достижения больших доз препарата лекарственную форму вводили животным многократно с интервалами 30 минут на протяжении интервала времени продолжительностью до 6 часов. Для исследования каждой дозы препарата использовались группы по 6 животных одного пола. Кроме того, имелись аналогичные по численности группы контрольных животных каждого пола, которым по тому же пути вводили эквивалентные объемы дистиллированной воды.

Период наблюдения составлял 14 суток. Регистрируемые показатели: летальность, время гибели животных, симптоматика отравления, наблюдение общего состояния и поведения, взвешивание, потребление корма и воды, вскрытие, описание животных (эвтаназия осуществлялась в CO₂-камере), определение массовых коэффициентов внутренних органов.

Статистический анализ

В основном обработка данных выполнялась с помощью простого сравнения средних по t-критерию Стьюдента. Так же пользовались методами дисперсионного анализа. Анализ данных для самцов и для самок проводился независимо. Это позволило не ограничиваться конкретной моделью взаимодействия фактора пола с остальными факторами.

Результаты и обсуждение.

Клиническая картина интоксикации

Первыми внешними проявлениями действия обоих препаратов являлись возбуждение, одышка, атаксия, общий тремор, которые сменялись гиподинамией.

Выборочное вскрытие животных выявило венное полнокровие внутренних органов, жид-

кую кровь в полостях сердца, темно-бурую кровь в просвете желудка. При введении сверхбольших доз в стенках желудка наблюдались единичные эрозии и кровоизлияния в подслизистом слое.

Результаты измерения массы тела животных представлены в таблице 1.

Анализ выявленных данных показывает определенное снижение средней массы тела у подопытных животных, на второй день после введения препарата. Причем этот эффект был более заметен у крыс, чем у мышей. Но в обоих случаях это не являлось статистически значимым. В последующие дни изменение массы тела подопытных животных во всех группах не отличалась от контрольной. Достоверных различий в изменении массы тела в группах животных, получавших изучаемые препараты, также не обнаружено.

Данные некропии

Шерсть подопытных животных имела ухоженный вид, была блестящей, без очагов облысения. Нарушений в расположении внутренних органов в грудной брюшной полостях при осмотре не обнаружено. Подчелюстные лимфатические узлы и слюнные железы имели овальную/округлую форму, однородный розоватый/желтоватый цвет и умеренную плотность. Щитовидная железа плотно прилежала к гортани, имела розоватый цвет, нормальные размеры и плотность. Тимус имел обычную форму, беловатый цвет и однородную плотную консистенцию. Величина и форма сердца были без отклонений от нормы. Мышца сердца была коричневатой, плотной. Поверхность легких имела бледно-розовую окраску; легкие спадались при вскрытии грудной клетки. Ткань на разрезе также имела однородную бледно-розовую окраску. Слизистая оболочка внелегочных бронхов была светло-розовой, гладкой, блестящей. Селезенка имела темно-красный цвет, гладкую поверхность и плотную консистенцию. Желудок имел нормальную форму и размеры, просвет был заполнен плотным пище-

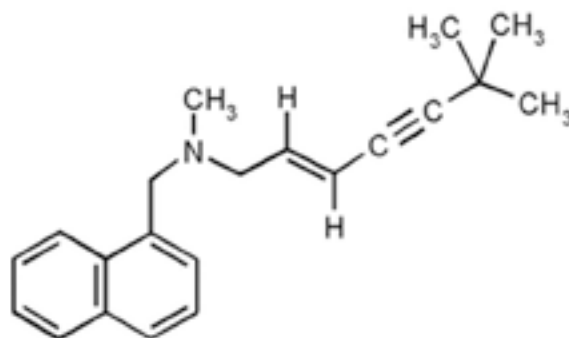


Рис. 1. Структурная формула нифуроксазида

вым содержимым. Слизистая тела желудка была светло-розовой, блестящей, складчатой. Слизистая тонкой и толстой кишки была блестящей, гладкой. Поджелудочная железа была бледно-розовой, дольчатой. Величина и форма печени были в норме. Капсула печени была тонкой, прозрачной. Ткань печени имела коричневатый цвет и умеренную плотную консистенцию. Величина и форма почек не отличались от нормы, капсула легко снималась, поверхность была гладкой, однородной, коричнево-серого цвета. На разрезе почек явно различались корковое и мозговое вещества. Форма, размеры и плотность надпочечников, яичников/яичек не отличались от нормы. Оболочки головного мозга были тонкими, прозрачными. Вещество головного мозга имело умеренную плотность. Расширения желудочков мозга не наблюдались.

В таблицах 2,3 приведены коэффициенты массы внутренних органов белых крыс и белых мышей при остром введении, данные представлены согласно распределению по группам в зависимости от принимаемого препарата. Анализ величин коэффициентов массы не выявил каких-либо достоверных отличий как между группами животных, получавшими сравниваемые препараты, и контрольной группы.

Токсикометрия

При введении максимально возможных объемов препаратов (до 50000 мг/кг, что составляло до 10-12 мл на крысу и 1-1,5 мл на мышь) летальных

эффектов достичь не удалось. Максимальная доза нифуроксазида в составе суспензии, которую удалось ввести крысам, составляет 2000 мг/кг.

По литературным данным ЛД₅₀ нифуроксазида для крыс при в/ж введении составляет более 6000 мг/кг [6]. Этим объясняется отсутствие летальных эффектов в эксперименте.

В таблице 4 представлена градация степеней токсичности при внутривенном и пероральном пути введения лекарственного препарата, согласно которой лекарственное средство для медицинского применения МНН Нифуроксазид («Нифуроксазид», суспензия для приема внутрь 200 мг/5 мл, ЛП 004858 от 23.05.2018 г) относится к VI классу относительно безвредных лекарственных веществ [7].

Заключение. Исследование острой токсичности лекарственного препарата позволило сформулировать следующие выводы:

1. Воспроизведенный препарат МНН Нифуроксазид («Нифуроксазид», суспензия для приема внутрь 200 мг/5 мл, ЛП 004858 от 23.05.2018 г.) и препарат-референт МНН Нифуроксазид («Энтерофурил®», суспензия для приема внутрь 200 мг/5 мл П N014624/02 от 06.11.2008 г.) относятся к VI классу относительно безвредных лекарственных веществ.

2. Близость обоих испытанных препаратов по показателям острой токсичности, одинаковая картина интоксикации, отсутствие выявляемых признаков поражений внутренних органов позво-

Таблица 1

Влияние острого введения сравниваемых препаратов на массу тела крыс и мышей (г, М±m)

Время наблюдения (дни)	Экспериментальная группа и пол					
	Контроль		«Нифуроксазид»		«Энтерофурил®»	
	М	Ф	М	Ф	М	Ф
Крысы						
Фон	181.6±4.3	185.6±1.9	182.9±4.6	186.4±2.7	181.9±3.1	187.8±2.4
2-й день	184.9±3.4	189.5±2.9	181.7±4.4	183.4±3.9	178.9±4.3	184.9±2.3
7-й день	196.4±4.1	196.1±2.9	190.9±5.4	195.4±3.1	192.4±4.7	197.1±2.8
14-й день	202.9±4.4	208.6±3.6	203.8±5.2	204.6±2.6	199.6±3.2	203.2±2.5
Мыши						
Фон	19.8±0.3	19.2±0.1	19.7±0.5	19.6±0.2	19.8±0.4	19.3±0.1
2-й день	20.3±0.3	19.4±0.3	19.5±0.1	19.3±0.1	19.4±0.1	19.1±0.4
7-й день	20.8±0.1	20.4±0.3	20.1±0.1	20.7±0.3	20.4±0.3	20.4±0.1
14-й день	21.7±0.5	21.0±0.3	20.8±0.4	21.5±0.1	21.3±0.1	20.7±0.4

Примечание: М – самцы, Ф - самки

Таблица 2

Коэффициенты массы органов белых крыс, белых мышей при остром введении изучаемых препаратов (г/кг веса тела, М±m)

Орган белых крыс	Экспериментальная группа и пол					
	Контроль		«Нифуроксазид»		«Энтерофурил®»	
	М	Ф	М	Ф	М	Ф
Сердце	3.5±0.1	4.0±0.3	4.0±0.3	3.8±0.1	4.2±0.3	4.0±0.2
Легкие с трахеей	7.2±0.1	6.8±0.5	7.7±0.1	7.3±0.5	7.3±0.2	7.6±0.4
Тимус	1.38±0.12	1.24±0.06	1.38±0.10	1.29±0.07	1.39±0.05	1.29±0.10
Печень	35.7±1.3	35.2±1.8	36.8±1.4	35.7±1.9	36.7±1.8	36.8±1.3
Селезенка	4.0±0.2	4.4±0.2	3.8±0.2	3.9±0.2	4.1±0.3	4.2±0.3
Почка (левая)	4.4±0.2	4.3±0.1	4.4±0.2	4.4±0.1	4.8±0.2	4.2±0.1
Надпочечники	0.10±0.01	0.08±0.01	0.09±0.01	0.08±0.01	0.09±0.01	0.10±0.01
Головной мозг	8.7±0.4	8.4±0.2	8.7±0.2	8.7±0.1	8.5±0.1	8.6±0.2
Яички или яичники	12.7±0.2	0.31±0.01	12.4±0.2	0.27±0.01	12.6±0.2	0.28±0.01

Орган белых мышей	Экспериментальная группа и пол					
	Контроль		«Нифуроксазид»		«Энтерофурил®»	
	М	Ф	М	М	Ф	М
Сердце	2.9±0.2	3.3±0.2	3.3±0.2	2.9±0.2	3.3±0.2	3.3±0.2
Легкие с трахеей	6.5±0.2	6.5±0.2	6.4±0.1	6.5±0.2	6.5±0.2	6.4±0.1
Тимус	0.85±0.03	0.83±0.05	0.79±0.03	0.85±0.03	0.83±0.05	0.79±0.03
Печень	39.7±0.5	33.9±1.4	41.3±2.6	39.7±0.5	33.9±1.4	41.3±2.6
Селезенка	2.9±0.06	3.3±0.2	3.3±0.3	2.9±0.06	3.3±0.2	3.3±0.3
Почка (левая)	4.2±0.2	3.9±0.2	4.4±0.2	4.2±0.2	3.9±0.2	4.4±0.2
Надпочечники	0.15±0.01	0.16±0.01	0.17±0.01	0.15±0.01	0.16±0.01	0.17±0.01
Головной мозг	16.3±0.6	15.6±0.2	15.8±0.1	16.3±0.6	15.6±0.2	15.8±0.1
Яички или яичники	3.8±0.1	0.22±0.03	3.4±0.3	3.8±0.1	0.22±0.03	3.4±0.3

Примечание: М – самцы, F - самки

Таблица 3

Степень токсичности лекарственного препарата в зависимости ЛД₅₀ [6]

Степень токсичности	Термин	ЛД ₅₀ , однократно per os, крысы (мг/кг)	ЛД ₅₀ , однократно i/v*, крысы (мг/кг)
1	Чрезвычайно токсично	<1	< 0.1
2	Высоко токсично	1-50	0.1-5
3	Умеренно токсично	50-500	5-50
4	Мало токсично	500-5000	50-500
5	Практически нетоксично	5000-15000	500-1500
6	Относительно безвредно	> 15000	> 1500

* - градации степеней токсичности при внутривенном пути введения определяются посредством умножения значений стандартных доз для оценки токсичности препарата при пероральном пути введения на коэффициент 0.1

ляет заключить, что лекарственные формы препаратов МНН Нифуроксазид («Нифуроксазид», суспензия для приема внутрь 200 мг/5 мл, ЛП 004858 от 23.05.2018 г и «Энтерофурил®», суспен-

зия для приема внутрь 200 мг/5 мл П N014624/02 от 06.11.2008 г) по показателям острой токсичности являются эквивалентными.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Подколзин А.Т., Мухина А.А., Шипулин Г.А. и др. Изучение этиологии ОКИ у детей, госпитализированных в инфекционные отделения г. Москвы. Инфекционные болезни. 2004 (№4): 85-91.
2. Родионова Н.В., Крамарь Л.В., Арова А.А. Современные подходы к диагностике и лечению острых инфекционных диарей у детей: Учебно-методическое пособие для студентов высших учебных учреждений. Волгоград: ФГБОУВО «ВГМУ»; 2017.
3. Федеральный закон от 12.04.2010 N 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».
4. Миронов А.Н.. Руководство по доклиническим исследованиям лекарственных средств. Т. 1. – М.: ФГБУ «НЦЭМСП», 2012. 942 с.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, М., Медицина, 2005, с.41-53.
6. Carron M., Jullien A., Julia T., Garczynska C. Antiseptic properties of various 5-nitrofurylidene benzhydrazides. Study of (5-nitro-2-furfurylidene)-4-hydroxy-benzhydrazide. Ann Pharm Fr, 1963 Apr;21:287-97.
7. H. Hodge et al. Clinical Toxicology of Commercial Products. Acute Poisoning. Ed. IV, Baltimore, 1975, 427 p

REFERENCES:

1. Podkolzin A.T., Muhina A.A., Shipulin G.A. et al. The study of the etiology of acute intestinal infection in children, there are hospitalized in infectious diseases Department of hospitals in Moscow. Infekcionnye bolezni. 2004 (№4): 85-91 (in Russian).
2. Rodionova N.V., Kramar' L.V., Arova A.A. Modern approaches to the diagnosis and treatment of acute infectious diarrhea in children: a textbook for students of higher educational institutions. Volgograd; 2017 (in Russian).
3. Federal law №61 at 12.04.2010 «About the address of drugs» (in Russian).
4. Mironov A.N. Manual for preclinical studies of drugs. V.1. Moscow, 2012; 942 (in Russian).
5. Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Moscow, 2005; 41-53 (in Russian).
6. Carron M., Jullien A., Julia T., Garczynska C. Antiseptic properties of various 5-nitrofurylidene benzhydrazides. Study of (5-nitro-2-furfurylidene)-4-hydroxy-benzhydrazide. Ann Pharm Fr, 1963 Apr; 21:287-97.
7. H. Hodge et al. Clinical Toxicology of Commercial Products. Acute Poisoning. Ed. IV, Baltimore, 1975, 427

E.A. Sitnikova¹, E.P. Rogozhnikova¹, S.G. Mardanly², V.A. Kisileva²

THE STUDY OF THE ACUTE TOXICITY OF NIFUROXAZIDE IN FORM OF SUSPENSION

¹CJSC «Ekolab», 142530, Elektrogorsk, Moscow region, Russian Federation

²State University of Humanities and Technology, 142611, Orekhovo-Zuevo, Moscow region, Russian Federation

A comparative study of acute toxicity of nifuroxazide preparations in form of suspension has been carried out. Mature individuals of white mice (weighing 18-20 g at the age of 8-9 weeks) and rats (weighing 160-180 g at the age of 13-14 weeks) of both sexes were under observation. The administration of the suspensions was performed in increasing doses by Litchfield-Wilcoxon, dosing was carried out by volume on the total mass of the suspension. The recorded indicators were mortality, time of death of animals, symptoms of poisoning, autopsy, description of animals at the end of the study, determination of mass coefficients of internal organs.

The compared drugs («Nifuroxazide», suspension for oral administration 200 mg/5 ml, LP 004858 dated 23.05.2018 and «Enterofuril», suspension for oral administration 200 mg/5 ml N014624/02 dated 06.11.2008) are equivalent in terms of acute toxicity, belonging to class VI of relatively harmless drugs, have similarities in the parameters of acute toxicity, the picture of intoxication is the same, and there are not detected signs of damage of internal organs.

Keywords: acute toxicity, nifuroxazide, preclinical studies.

Переработанный материал поступил в редакцию 19.11.2018 г.

