

# Оценка токсикологического профиля новой лекарственной формы препарата Диоксидин (раствор для местного и наружного применения, 0,025%)

\*М. В. ЖУРАВЛЁВА<sup>1</sup>, Е. А. РОЩИНА<sup>2</sup>, Е. А. ЛОСЕВА<sup>2,4</sup>, А. В. ГУРОВ<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

<sup>2</sup> АО «НПО «Дом Фармации», г. п. Кузьмоловский, Ленинградская обл., Россия

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

<sup>4</sup> ГБУЗ города Москвы «Научно-исследовательский клинический институт оториноларингологии им. Л. И. Свержевского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

## Assessment of The Toxicological Profile of The New Dioxidine Dosage Form (Solution for Topical and External Use, 0.025%)

\*MARINA V. ZHURAVLEVA<sup>1</sup>, ELIZABETH A. ROSHCHINA<sup>2</sup>, CATHERINE A. LOSEVA<sup>2</sup>, ALEXANDER V. GUROV<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

<sup>2</sup> JSC RMC «Home of Pharmacy», Kuzmolovskiy urban-type settlement, Leningrad region, Russia

<sup>3</sup> Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Sverzhovsky Research Clinical Institute of Otorhinolaryngology, Moscow, Russia

### Резюме

Изучали общую токсичность с оценкой местной переносимости, иммунотоксичности и фармакологической безопасности новой лекарственной формы препарата Диоксидин, раствор для местного и наружного применения, 0,25 мг/мл (0,025%) для лечения острого тонзиллофарингита (АО «Валента Фарм», Россия). В эксперимент брали 48 кроликов (в равной пропорции по полу), рандомизированных в 3 группы ( $n=16$  в каждой группе), и которым в течение 28 дней орошали заднюю стенку глотки исследуемыми веществами. Группа 1 — контрольная (водный раствор NaCl 0,9% для инфузий в суточной дозе 4,0 мл/животное); группа 2 — диоксидин (1,8 мл/животное); группа 3 — диоксидин (4,0 мл/животное). Животных наблюдали весь период введения препаратов — до 28 дня эксперимента, и в период отсроченного наблюдения — до 58 дня. Регистрировали показатели: летальность, ежедневное наблюдение общего состояния и поведения, взвешивание, учёт потребления корма и воды, частоту дыхательных движений, ЧСС, АД, коэффициенты массы внутренних органов, выполняли электрокардиограмму. Проводили оценку иммунотоксичности, симптоматики отравления, надпочечниковой недостаточности и результатов вскрытия животных. Выполняли клинический и биохимический анализы крови, анализ свёртывающей системы крови, анализ мочи, макроскопическое и гистологическое исследования внутренних органов. Отсутствие статистически значимых различий всех оцениваемых показателей между группой животных, получавших диоксидин раствор для местного и наружного применения, 0,25 мг/мл (0,025%) в дозе 1,8 мл/животное (эквивалент 15 терапевтических доз для человека), группой, получавших диоксидин в дозе 4,0 мл/животное (эквивалент 35 терапевтических доз для человека) и контрольной группой, позволили сделать выводы об отсутствии признаков общей токсичности, включая токсическое влияние на надпочечники, кардиотоксичности, иммунотоксичности и токсического влияния на другие органы и системы органов, а также местного раздражающего и токсического действия при многократном распылении диоксидина на заднюю стенку глотки кроликов на протяжении 28 дней и в период отсроченного наблюдения.

**Ключевые слова:** общая токсичность; местное раздражающее действие; надпочечниковая недостаточность; диоксидин; фармакологическая безопасность

**Для цитирования:** Журавлёва М. В., Рощина Е. А., Лосева Е. А., Гуров А. В. Оценка токсикологического профиля новой лекарственной формы препарата диоксидин (раствор для местного и наружного применения, 0,025%). *Антибиотики и химиотер.* 2022; 67: 7–8: 24–32. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-7-8-24-32>.

### Abstract

The general toxicity was studied with an assessment of local tolerability, immunotoxicity, and pharmacological safety of the new medicine Dioxidine®, a solution for topical and external use, 0.25 mg/ml (0.025%) for the treatment of acute tonsillopharyngitis (JSC «Valenta Pharm», Russia). The experiment included 48 rabbits (divided in equal proportion by sex) randomized into 3 groups ( $n=16$  in each group), whose back wall of the pharynx was irrigated with the studied substances

© Коллектив авторов, 2022

\*Адрес для корреспонденции: ул. Трубецкая, д. 2, стр. 4, ПМГМУ им. И. М. Сеченова, г. Москва, Россия, 119991.  
E-mail: mvzhuravleva@mail.ru

© Team of Authors, 2022

\*Correspondence to: 2 bld 4 Trubetskaya st., I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, 119991 Russia.  
E-mail: mvzhuravleva@mail.ru

for 28 days. Group 1 — control (aqueous solution of NaCl 0.9% for infusions at a daily dose of 4.0 ml/animal); group 2 — dioxidine (1.8 ml/animal); group 3 — dioxidine (4.0 ml/animal). The animals were observed for the entire period of drug administration — up to the 28<sup>th</sup> day of the experiment, as well as during the delayed observation period — up to the 58<sup>th</sup> day. The following indicators were recorded: lethality, daily monitoring of general condition and behavior, weight, feed and water consumption, respiratory rate, heart rate, blood pressure, electrocardiogram, mass coefficients of internal organs. Immunotoxicity, poisoning symptoms, adrenal insufficiency, as well as animal autopsy results were assessed. Clinical and biochemical blood tests, blood coagulation system analysis, urine analysis, macroscopic and histological examination of internal organs were performed. The absence of statistically significant differences in all evaluated indicators between the group of animals receiving dioxidine solution for topical and external use, 0.25 mg/ml (0.025%) at a dose of 1.8 ml/animal (equivalent to 15 therapeutic doses for humans), the group receiving dioxidine at a dose of 4.0 ml/animal (equivalent to 35 therapeutic doses for humans) and the control group allowed us to draw conclusions concerning the absence of signs of general toxicity, including toxic effects on the adrenal glands, cardiotoxicity, immunotoxicity, and toxic effects on other organs and organ systems, as well as local irritant and toxic effects after repeated irrigation of dioxidine on the back wall of the pharynx in rabbits for 28 days and during the period of delayed observation.

**Keywords:** general toxicity; local irritant effect; adrenal insufficiency; dioxidine; pharmacological safety

**For citation:** Zhuravleva M. V., Roshchina E. A., Loseva E. A., Gurov A. V. Assessment of the toxicological profile of the new dioxidine dosage form (solution for topical and external use, 0.025%). *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2022; 67: 7–8: 24–32. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-7-8-24-32>.

## Актуальность

Гидрокси метилхиноксалиндиоксид (Диоксидин) относится к группе синтетических противомикробных препаратов широкого спектра действия. С 1976 г. препарат зарегистрирован и разрешён к применению для медицинских целей в форме раствора для инъекций 1% [1]. Позднее диоксидин получил новые способы применения (наружный и местный) и до настоящего времени широко применяется в хирургии и оториноларингологии [2–6]. В числе показаний к применению препарата Диоксидин (раствор 1%) указано лечение острого тонзиллофарингита и обострения хронического тонзиллита (компенсированной формы) [7]. В рамках усовершенствования лекарственного обеспечения населения отечественными лекарственными препаратами [8] компанией-производителем (АО «Валента Фарм») была разработана новая лекарственная форма препарата для лечения острого тонзиллофарингита Диоксидин® — раствор для местного применения 0,25 мг/мл (0,025%). В период июня–декабря 2021 г. была проведена серия исследований по оценке токсикологического профиля данного препарата в соответствии с действующими требованиями [9]. Объём доклинических испытаний определялся действующими нормативными документами [9–14]. Работы по изучению токсичности были выполнены в АО «НПО «Дом фармации» (Ленинградская область), по заказу фармацевтической компании АО «Валента Фарм».

Цель исследования — изучение общей токсичности с оценкой местной переносимости, иммунотоксичности и фармакологической безопасности препарата Диоксидин, раствор для местного и наружного применения, 0,25 мг/мл (0,025%) на кроликах при многократном распылении на заднюю поверхность глотки в течение 28 дней с пе-

риодом отсроченного наблюдения (АО «Валента Фарм», Россия).

## Материал и методы

В качестве тест-системы были выбраны самцы и самки кроликов, ввиду их широкого успешного применения в токсикологических экспериментах [10], а также с учётом удобства нанесения исследуемых препаратов на заднюю стенку глотки у данного вида экспериментальных животных.

В эксперимент были взяты 48 кроликов породы «Белый великан» (самцы и самки в пропорции 1:1) в возрасте 14–16 нед. (масса тела самцов — 3120–4475 г и самок — 2910–4190 г), которых с помощью метода модифицированной блочной рандомизации распределили в 3 группы. В качестве тестируемого препарата применялся Диоксидин, раствор для местного и наружного применения, 0,25 мг/мл (АО «Валента Фарм», Россия), в качестве контрольного вещества — водный раствор NaCl 0,9% для инфузий (ООО «Гематек», Россия).

Исследуемые препараты распыляли на заднюю стенку глотки, в соответствии со способом введения препарата в клинической практике [10]. Дозы (мл/животное) тестируемого препарата были определены, исходя из расчёта суточной терапевтической дозы для человека. В соответствии с инструкцией по медицинскому применению (ИМП), тестируемый препарат планируется применять путём орошения задней стенки горла (3–4 кратное распыление) 3 раза в сутки. Принимая, что максимальный однократный объём распыления составляет 200 мкл, была рассчитана суточная терапевтическая доза (ТД) для человека — 1,8 мл раствора (200 мкл × 3 × 3) или 0,03 мл/кг для человека массой тела 60 кг. В эксперименте тестируемый препарат был изучен в следующих дозах: 1,8 мл/кролика (0,47 мл/кг для самца кролика массой 3,7 кг и 0,51 мл/кг для самки массой 3,5 кг) — группа 2, и 4,0 мл/кролика (1,05 мл/кг для самца и 1,14 мл/кг — для самки) — группа 3. Животным контрольной группы (группа 1) распыление контрольного вещества на заднюю стенку глотки осуществляли в объёме, эквивалентном максимальному объёму введения тестируемого препарата (4,0 мл). Животным групп 1 и 3 исследуемые объёмы распыляли 5 раз в день по 4 нажатия, разовая доза — 800 мкл/животное. Животным группы 2 орошение проводили 3 раза в день по 3 нажатия, разовая доза — 600 мкл/животное. Интервал между введениями составил от 30 до 60 мин. Исследуемые препараты вводили с 1-го по 28-й день эксперимента, руководствуясь требованиями OECD к местным способам применения [15].

Таким образом, тестируемый препарат в эксперименте изучался в дозах, превышающих ТД для человека в 15,8–17,1 раз и 35,1–37,1 раз (1,8 мл/животное и 4,0 мл/животное, соответственно). Продолжительность курса введения препаратов в эксперименте превышала рекомендуемую в 4 раза (28 дней по сравнению с 7 днями в соответствии с ИМП). Продолжительность периода отсроченного наблюдения составила 28 дней после завершения введения препаратов. Эвтаназию проводили в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Советом ЕС от 22.09.2010 г. по охране животных, используемых в научных целях [16] путём передозировки смеси ветеринарных препаратов Золетил 100 («Virbac Sante Animale», Франция) + Ксилазин 2% («Interchemie werken «De Adelaar» B.V», Нидерланды) и Пропрофол-Каби 20 мг/мл (Фрезениус Каби Дойчланд ГмбХ, Германия), затем удаляли жизненно важные (лёгкие, сердце, головной мозг, надпочечники) и другие органы, включая глотку, тимус и селезёнку: 50% животных в группах — на 29-й день, оставшихся — на 59-й день эксперимента.

В ходе данного эксперимента анализировали клиническую картину интоксикации, оценивали фармакологическую безопасность в отношении сердечно-сосудистой, дыхательной и центральной нервной систем, выявляли органы-мишени в отношении возможного токсического действия тестируемых объектов, изучали местную переносимость и определяли иммунотоксические проявления. Кроме того, анализировали обратимость токсических эффектов.

Ежедневное клиническое наблюдение за животными осуществляли с 1-го по 28-й день введения препаратов и продолжали до 58-го дня включительно. Регистрацию массы тела, оценку потребления корма и воды и расширенный клинический осмотр проводили с 1-го дня еженедельно. Выполняли осмотр животного с исследованием места введения и регистрировали поведение животного, состояние кожных покровов и видимых слизистых оболочек, включая носовую и ротовую полости, наблюдали за процессами дефекации и мочеиспускания. Регистрация частоты дыхательных движений (ЧДД) при помощи пьезокерамического датчика (AD Instruments, Австралия), частоты сердечных сокращений (ЧСС) и электрокардиограммы (ЭКГ) на компьютерном электрокардиографе для ветеринарии «Полиспектр-8/Е» (ООО «Нейрософт», Россия), артериального давления (АД) при помощи ветеринарного монитора давления Zoomed BPM-2 (Zoomed, Россия) у животных проводили на 1-й и 26-й дни (у животных, подлежащих эвтаназии на 29-й день эксперимента) под наркозом (смесь ветеринарных препаратов Золетил 100 («Virbac Sante Animale», Франция) + Ксилазин 2% («Interchemie werken «De Adelaar» B.V», Нидерланды)); гематологический анализ образцов крови на гематологическом анализаторе Mythic 18 Vet («Orphee», Швейцария), активность свёртывающей системы крови (активированное частичное тромбопластиновое время — АЧТВ и протромбированное время — ПВ) на анализаторе показателей гемостаза (коагулометр 4-канальный АПГ4-02-П, ООО «ЭМКО», Россия) и биохимического анализа на анализаторе Random Access «А-25» («BioSystems», Испания) осуществляли на 28-й и 58-й дни, а исследование образцов мочи — на 27-й и 59-й дни. Первые заборы крови и мочи осуществляли у животных, подлежащих эвтаназии на 29-й день эксперимента. Патоморфологическое исследование всех экспериментальных животных включало в себя некропсию и макроскопическое исследование. Органы, извлечённые при некропсии, подвергали взвешиванию и гистологическому исследованию.

В рамках изучения иммунотоксических свойств анализировали показатели общего количества лейкоцитов, содержания гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов, уровень глобулинов, массовые коэффициенты тимуса и селезёнки, данные гистологического анализа тимуса, селезёнки и подчелюстных лимфатических узлов.

В ходе оценки фармакологической безопасности тестируемого препарата в отношении сердечно-сосудистой и дыха-

тельной систем (ССС и ДС) использовали показатели ЧДД, ЧСС, АД и ЭКГ, а также результаты гистологического анализа трахеи, лёгких и бронхов, сердца и аорты. Влияние исследуемых препаратов на состояние центральной нервной системы (ЦНС) оценивали по изменениям в поведении животных и по результатам гистологического анализа головного и спинного мозга.

Для оценки местной переносимости исследуемых объектов визуально оценивали макроскопические изменения видимой слизистой оболочки ротовой полости и глотки при клиническом осмотре и во время некропсии с последующей гистологической оценкой глотки.

Для всех данных была применена описательная статистика: данные были проверены на соответствие закону нормального распределения с помощью критерия Шапиро–Уилка. Рассчитывались: среднее значение ( $M$ ), стандартная ошибка среднего ( $SEM$ ) — в случае нормального распределения, медиана ( $Me$ ) и квартильный размах ( $Q1$ ;  $Q3$ ) — в случае не соответствия закону нормального распределения. Межгрупповые различия были проанализированы параметрическими или непараметрическими методами, в зависимости от типа распределения: для оценки данных с признаками нормального распределения использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) и дисперсионный анализ с повторными измерениями; для данных, не подчиняющихся закону нормального распределения, применяли критерий Краскела–Уоллиса. Последующее межгрупповое сравнение осуществляли с использованием сравнения рангов.

Различия были определены при  $p < 0,05$  уровне значимости. Статистический анализ выполняли с помощью лицензированного программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft, США).

## Результаты и обсуждение

Гибель животных на протяжении всего исследования в экспериментальных группах отсутствовала. На начало эксперимента масса тела животных не отличалась между экспериментальными группами больше, чем на 20%, отдельно для самцов и самок. Статистический анализ выявил прирост массы тела самцов в контрольной группе и группе, получавшей тестируемый препарат в дозе 4,0 мл/животное и у самок во всех группах — в период введения, по данным отсроченного наблюдения — во всех группах у самцов, что отражает нормальный физиологический процесс у экспериментальных животных. На протяжении всех периодов наблюдения оценка потребления корма и воды животными (самцами и самками по отдельности) из групп 2 и 3 (диоксидин в дозах 1,8 мл/животное и 4,0 мл/животное) не имела статистически значимых различий по сравнению с контрольной группой.

При ежедневном клиническом наблюдении и еженедельном клиническом осмотре, не выявили животных в неудовлетворительном состоянии, испытывающих боль или находившихся в состоянии дистресса. При клиническом осмотре отклонений во внешнем виде и поведении экспериментальных животных в сравнении с животными, получавшими контрольное вещество, не выявлено.

Влияния тестируемого препарата в дозах 1,8 мл/животное и 4 мл/животное (15,8–17,1 ТД

человека и 35,1–37,1 ТД человека) на общее состояние экспериментальных животных при распылении на заднюю стенку глотки не зарегистрировано как в период введения, так и в период отсроченного наблюдения.

При оценке влияния тестируемых препаратов на показатели системы гемостаза статистический анализ не выявил значимых различий между экспериментальными группами животных (отдельно самцов и самок) по АЧТВ и ПВ по окончании обоих периодов наблюдения.

В ходе оценки влияния исследуемого препарата на гематологические показатели крови при распылении на заднюю стенку глотки не было выявлено статистически значимых отличий между экспериментальными группами по окончании периода введения препаратов. По окончании периода отсроченного наблюдения были выявлены статистически значимые отличия у самцов группы 2 (распыление Диоксидина в дозе 1,8 мл/животное) относительно контрольной группы: лейкоциты —  $8,5 \pm 0,62 \cdot 10^9$ /л и  $6,5 \pm 0,45 \cdot 10^9$ /л ( $p < 0,05$ ), моноциты —  $2,9 \pm 0,41\%$  и  $1,7 \pm 0,14\%$  ( $p < 0,05$ ), соответственно. Выявленные различия между экспериментальными группами являются клинически незначимыми, так как показатели соответствуют лабораторным нормам по данному виду животных: лейкоциты —  $5,2$ – $12,5 \cdot 10^9$ /л, моноциты —  $0$ – $10\%$  [17] и не имеют дозозависимости. Среди самок кроликов было выявлено статистически значимое уменьшение содержания гемоглобина в группе 3 (4 мл/животное) по сравнению с группой 2 (1,8 мл/животное) по окончании периода отсроченного наблюдения. Выявленное изменение показателя между экспериментальными группами не имеет клинической значимости, так как статистически значимых отличий от контрольной группы не выявлено, и показатель соответствует лабораторным нормам для данного вида животных: гемоглобин —  $100$ – $174$  г/л [17].

По данным, полученным по окончании периода введения, диоксидин не оказал влияния на биохимические показатели крови самцов, а у самок было выявлено статистически значимое повышение уровня глюкозы в группах тестируемого препарата в отличие от контрольной группы ( $7,2 \pm 0,09$  ммоль/л,  $7,4 \pm 0,09$  ммоль/л,  $6,7 \pm 0,12$  ммоль/л для экспериментальных групп 2, 3 и контрольной группы, соответственно,  $p < 0,05$ ). Однако выявленное различие между группами является клинически незначимым, так как показатель соответствует лабораторным нормам по данному виду животных: глюкоза —  $4,2$ – $8,6$  ммоль/л [17]. Анализ данных, полученных по окончании периода отсроченного наблюдения у самцов кроликов выявил следующие статистически значимые изменения: уменьшение показателей АЛТ ( $42,4 \pm 2,71$  Ед/л) и мочевины ( $4,3 \pm 0,24$  ммоль/л) в группе 2 и уменьшение показателя глюкозы в группе 3 ( $6,8 \pm 0,18$  ммоль/л) относи-

тельно контрольной группы ( $57,6 \pm 1,29$  Ед/л,  $5,8 \pm 0,10$  ммоль/л,  $8,0 \pm 0,26$  для АЛТ, мочевины и глюкозы, соответственно,  $p < 0,05$ ). Кроме того, в группе 2 отмечалось уменьшение показателя креатинина по сравнению с группами 1 и 3 ( $124,3 \pm 3,50$ ;  $141,7 \pm 4,42$  и  $142,0 \pm 4,29$ , соответственно,  $p < 0,05$ ). Выявленные различия между экспериментальными группами являются клинически незначимыми, так как показатели соответствуют лабораторным нормам по данному виду животных: АЛТ —  $14$ – $80$  Ед/л, креатинин —  $44,2$ – $221,0$  мкмоль/л, глюкоза —  $4,2$ – $8,6$  ммоль/л [17], мочевина —  $3,5$ – $10,7$  ммоль/л [18]. Анализ данных, полученных у самок по окончании периода отсроченного наблюдения, не выявил статистически значимых отличий.

Анализ данных по показателям рН и относительной плотности мочи, полученных по окончании периода распыления исследуемых препаратов на заднюю стенку глотки и отсроченного наблюдения у самцов и самок кроликов не выявил статистически значимых отличий между экспериментальными группами. В связи с тем, что выявленный в полученных образцах мочи самок билирубин (на уровне «+»), присутствовал у животных из всех экспериментальных групп, обнаруженное изменение не имело клинического значения.

Анализ показателей АД и ЧДД, полученных на 1-й и 26-й дни эксперимента, не выявил статистически значимых межгрупповых различий. Анализ данных ЭКГ 1-го дня эксперимента выявил статистически значимое отличие по показателю PQ в группах 2 и 3 по сравнению с контрольной группой ( $74 \pm 1,7$  мсек,  $74 \pm 2,7$  мсек и  $82 \pm 0,6$  мсек, соответственно,  $p < 0,05$ ) у самок. Так как отличия были выявлены до введения исследуемого препарата, то были расценены как клинически незначимые, обусловленные вариантом нормы у данного вида животных. По остальным показателям ЭКГ самцов и самок, полученным в 1-й и 26-й дни эксперимента не было выявлено статистически значимых различий между экспериментальными группами. Гистологический анализ препаратов стенки сердца и стенки аорты, а также препаратов трахеи, бронхов и лёгких экспериментальных животных, подвергавшихся многократному орошению исследуемыми препаратами задней стенки глотки, не выявил каких-либо признаков повреждения тканей и клеток. Таким образом, была доказана фармакологическая безопасность диоксидина по влиянию на ССС и ДС животных.

Фармакологическая безопасность тестируемых препаратов в отношении ЦНС была установлена по данным ежедневного клинического наблюдения за животными (отсутствие нарушений координации движений, поведения, реакций на раздражители) и по результатам гистологического исследования головного и спинного мозга

**Массовые коэффициенты надпочечников кроликов на 29-й и 59-й дни эксперимента при пути введения препаратов на заднюю стенку глотки,  $M \pm SEM$ ,  $n=4$ .**

**Mass ratios of the adrenal glands of rabbits on the 29<sup>th</sup> and the 59<sup>th</sup> days of the experiment,  $M \pm SEM$ ,  $n=4$**

Животные	Группа, №	День эксперимента	
		28-й	58-й
Самцы	1 (контрольное вещество, 4 мл/животное)	0,007±0,0006	0,011±0,0013
	2 (диоксидин, 1,8 мл/животное, 15,8 ТД человека)	0,009±0,0014	0,009±0,0008
	3 (диоксидин, 4 мл/животное, 35,1 ТД человека)	0,011±0,0021	0,011±0,0016
Самки	1 (контрольное вещество, 4 мл/животное)	0,008±0,0010	0,011±0,0005
	2 (диоксидин, 1,8 мл/животное, 15,8 ТД человека)	0,007±0,0005	0,013±0,0023
	3 (диоксидин, 4 мл/животное, 35,1 ТД человека)	0,010±0,0015	0,011±0,0013

(отсутствие макроскопических и микроскопических патологических изменений во всех экспериментальных группах).

По данным патологоанатомического и гистологического исследований животных при плановой некропии, диоксидин при изучаемом способе введения лабораторным животным не оказал негативного воздействия на патоморфологическое строение внутренних органов экспериментальных животных. Результат анализа зарегистрированных данных массы органов, полученных по окончании периодов введения и отсроченного наблюдения, а также массовых коэффициентов оцениваемых органов свидетельствовал о фармакологической безопасности диоксида при многократном нанесении на слизистую оболочку глотки лабораторных животных. Существующие данные [7] о возможности развития острой надпочечниковой недостаточности при передозировке препарата при внутривенном пути введения, обусловили отдельную оценку состояния надпочечников экспериментальных животных (таблица).

Как видно из приведённых данных, по окончании периодов введения и отсроченного наблюдения признаки патологического влияния диоксида на состояние надпочечников отсутствовали.

Представленные данные подтверждают результаты исследования, проведённого в АО «НПО «Дом Фармации» в 2018 г. с целью оценки влияния диоксида (раствор для внутривенного, местного и наружного применения, 10 мг/мл) на морфологическое и функциональное состояние надпочечников половозрелых крыс при многократном введении с оценкой отсроченного влияния (30 дней введения + 30 дней наблюдения). В этом исследовании было показано отсутствие его влияния на надпочечники при многократном введении диоксида путём распыления на заднюю стенку глотки в дозе 0,3 мл/животное (1600 ТД человека) в период введения и отсроченного наблюдения (в настоящее время данные не опубликованы).

По результатам ежедневного клинического наблюдения и еженедельного осмотра лабораторных животных, в месте введения препарата — в рото-

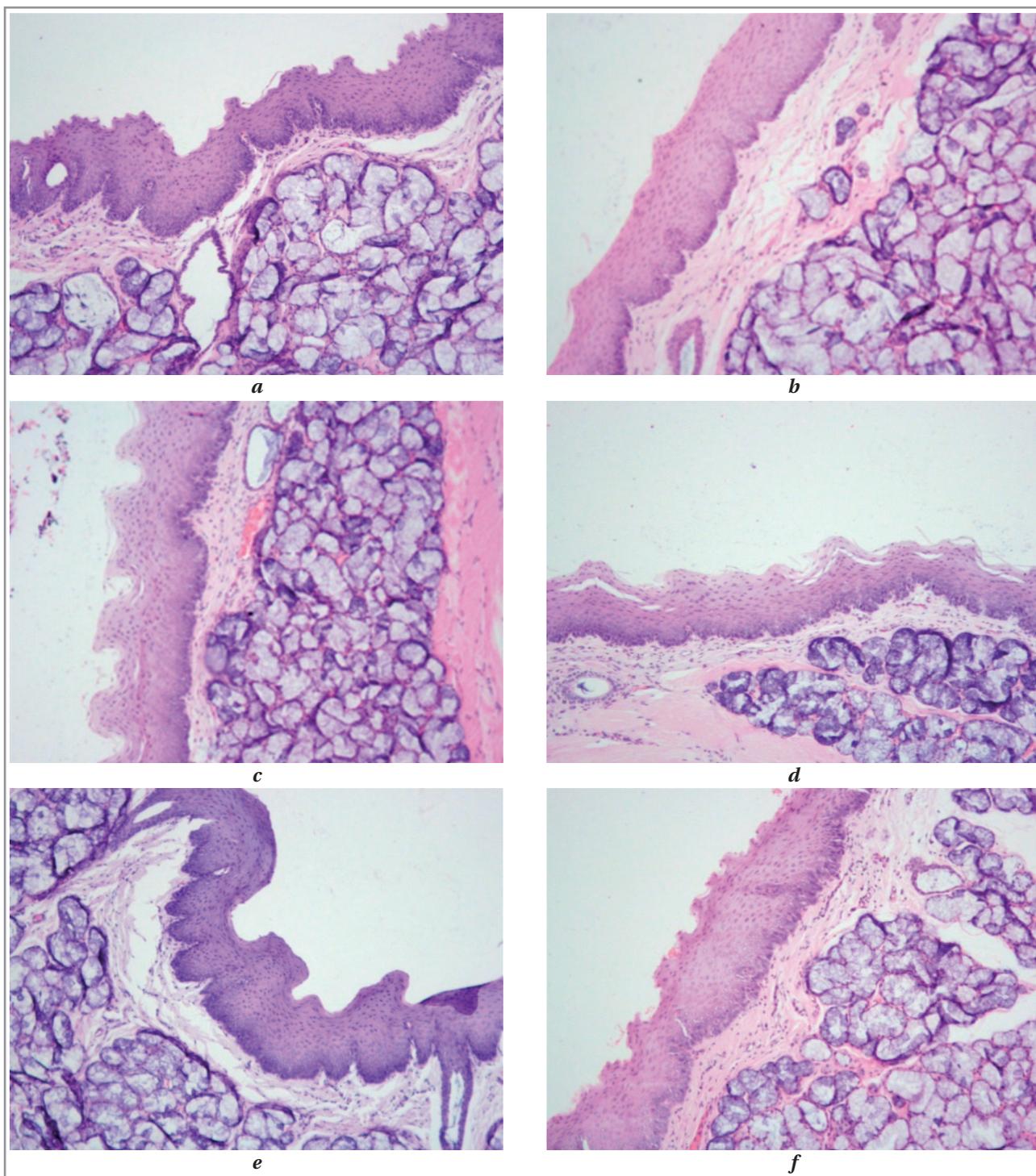
вой полости, на задней стенке глотки и на рядом расположенных тканях макроскопических изменений выявлено не было. При патологоанатомическом исследовании также отсутствовали макроскопические патологические изменения в желудке животных. У всех исследованных животных по окончании периодов введения и отсроченного наблюдения микроскопическое строение тканей задней стенки глотки соответствовало норме. Многослойный плоский эпителий и подлежащие мягкие ткани не имели признаков воспаления и дистрофии (рис. 1, а–г). Указанные данные показали отсутствие местного раздражающего или повреждающего действия тестируемого препарата в обеих дозах.

Для исключения признаков иммунотоксического действия были проанализированы гематологические и биохимические показатели крови, выполнена оценка массовых коэффициентов тимуса и селезёнки и гистологическое исследование тимуса, селезёнки и подчелюстных лимфатических узлов экспериментальных животных.

При анализе общего уровня лейкоцитов, содержания гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов, а также по биохимическому показателю уровня глобулинов в крови экспериментальных животных клинически значимых изменений выявлено не было как по окончании периода введения, так и по окончании периода отсроченного наблюдения (см. выше).

Анализ данных массовых коэффициентов тимуса и селезёнки животных не выявил статистически значимых отличий по окончании обоих периодов наблюдения. Макроскопическая оценка и гистологическое исследование тимуса, подчелюстных лимфатических узлов и селезёнки также не выявили признаков патологии (рис. 2, а–д и рис. 3, а–д).

Таким образом, многократное распыление на заднюю стенку глотки кроликов тестируемого препарата не оказало иммунотоксического влияния на гематологические и биохимические показатели крови, строение и массовые коэффициенты тимуса, селезёнки и строение подчелюстных лимфатических узлов животных.



**Рис. 1.** Микропрепараты — срезы задней стенки глотки (место введения).

*a* — самца кролика из группы 1; *b* — самки кролика из группы 1; *c* — самца кролика из группы 2; *d* — самки из группы 2; *e* — самца из группы 3; *f* — самки из группы 3. В 6 препаратах патологические изменения отсутствуют. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение  $\times 100$ .

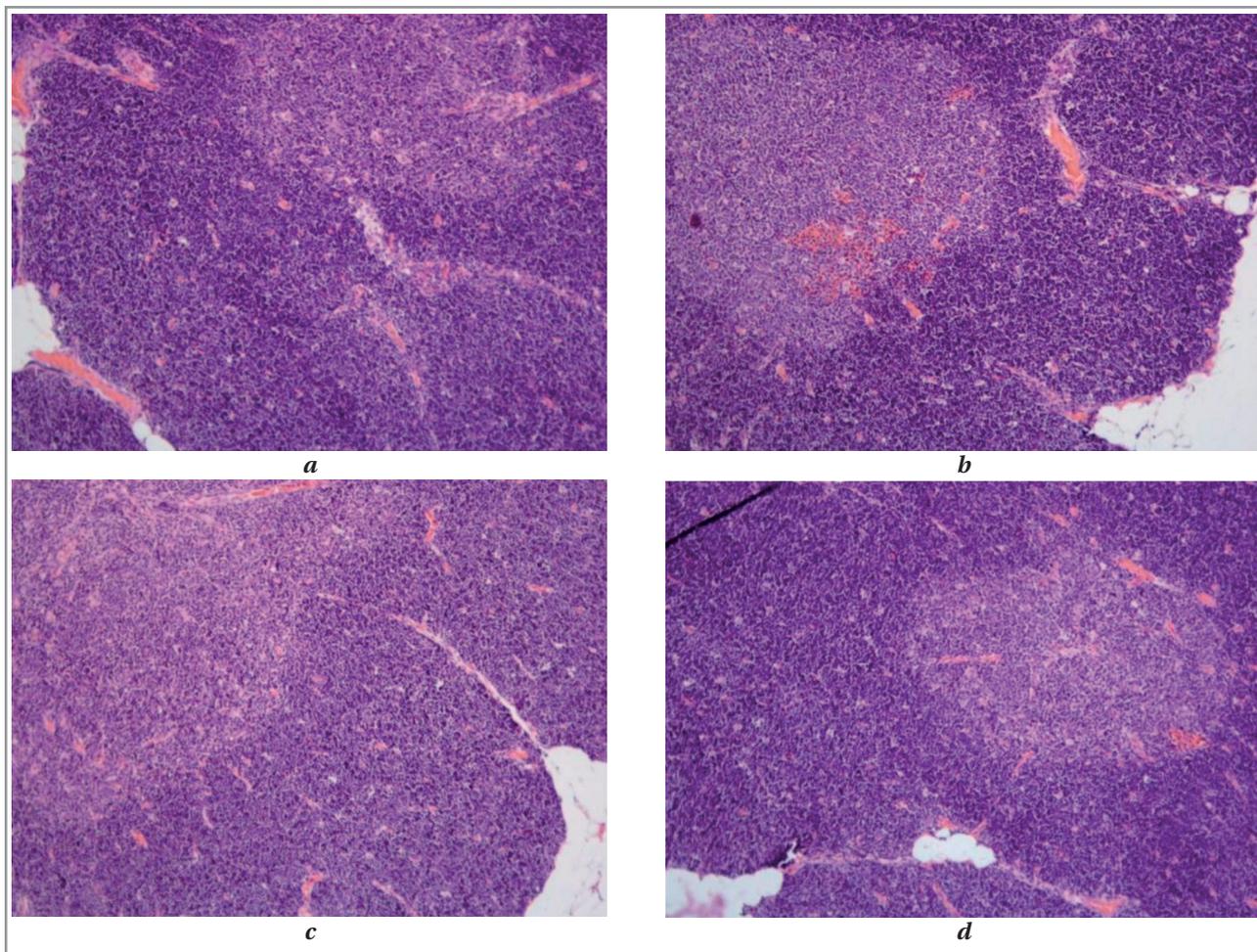
**Fig. 1.** Slides — sections of the posterior pharyngeal wall (injection site).

*a* — male rabbit from group 1; *b* — female rabbit from group 1; *c* — male rabbit from group 2; *d* — female from group 2; *e* — male from group 3; *f* — female from group 3. Pathological changes in 6 preparations were absent. Hematoxylin-eosin staining. Magnification  $\times 100$ .

## Выводы

Проведённое доклиническое исследование токсичности, местной переносимости, иммуно-

токсичности и фармакологической безопасности тестируемого препарата Диоксидин®, раствор для местного и наружного применения, 0,25 мг/мл



**Рис. 2. Микропрепараты для оценки иммунотоксического действия – срезы тимуса (Т).**

*a*— Т самца кролика из группы 1; *b*— Т самки кролика из группы 1; *c*— Т самца кролика из группы 3; *d*— Т самки из группы 3. В 4-х препаратах патологические изменения отсутствуют. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение  $\times 100$ .

**Fig. 2. Slides for the assessment of immunotoxic effect - sections of the thymus (T).**

*a*— T of a male rabbit from group 1; *b*— T of a female rabbit from group 1; *c*— T of a male rabbit from group 3; *d*— T of a female from group 3. There are no pathological changes in 4 preparations. Hematoxylin-eosin staining. Magnification  $\times 100$ .

(0,025%) (АО «Валента Фарм», Россия) при многократном распылении на заднюю поверхность глотки в течение 28 дней в суточных дозах 1,8 мл/животное (15,8–17,1 ТД человека массой 60 кг) и 4,0 мл/животное (35,1–37,1 ТД человека массой 60 кг) с периодом отсроченного наблюдения до 58-го дня позволило сделать следующие выводы:

1. На протяжении эксперимента гибель животных во всех экспериментальных группах отсутствовала. Введение тестируемого препарата не привело к развитию интоксикации и не повлияло на общее состояние животных.

2. По результатам оценки фармакологической безопасности тестируемого препарата, распыляемого на заднюю стенку глотки, кардиотоксического действия, влияния на дыхательную и центральную нервную системы не обнаружено.

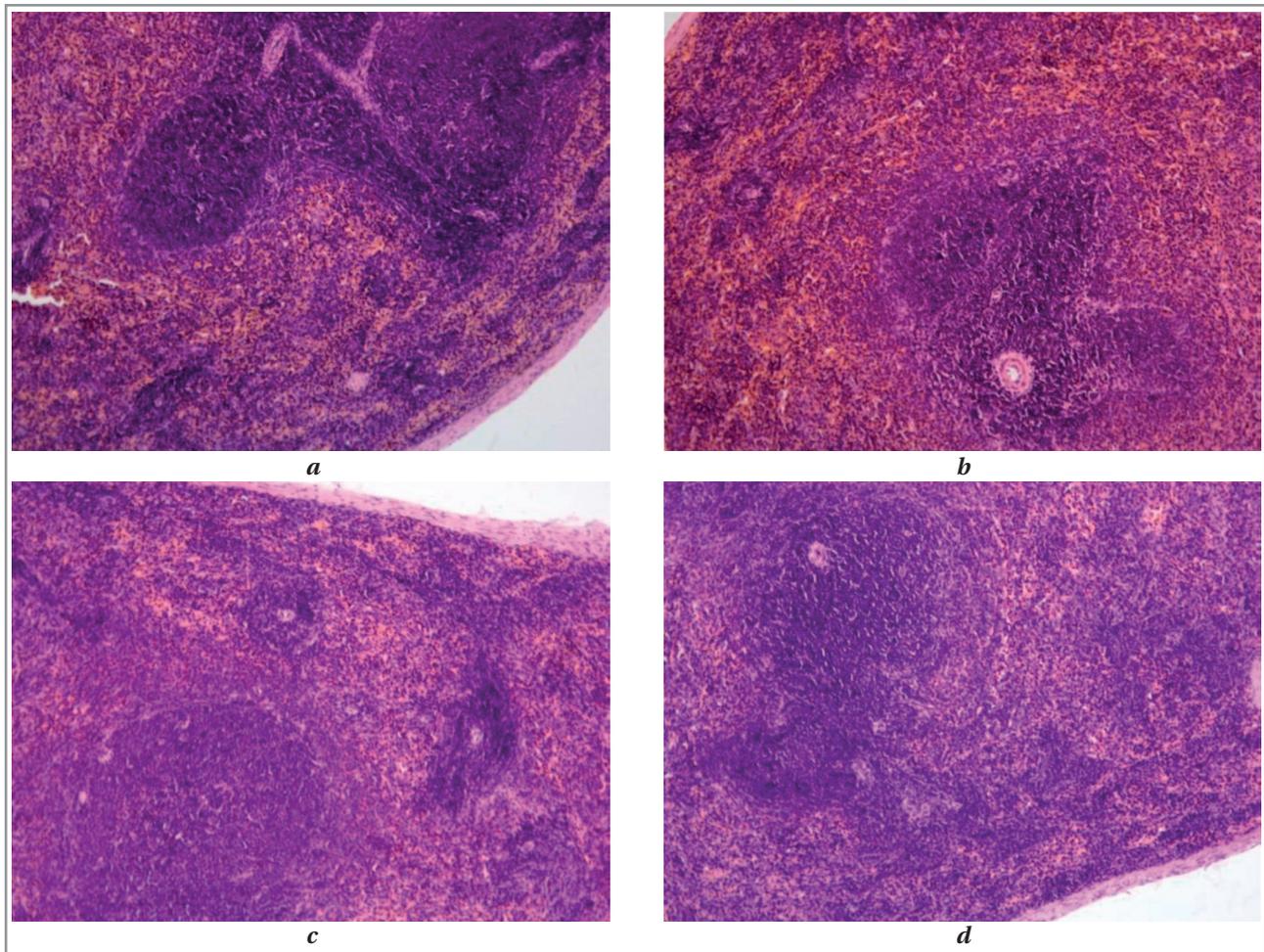
3. По окончании периода введения токсического действия тестируемого препарата на осно-

вании лабораторных, клинко-инструментальных и морфологических показателей не выявлено. Органы-мишени токсического воздействия в рамках данного исследования не выявлены.

4. Отсроченных токсических эффектов на основании лабораторных, клинко-инструментальных и морфологических показателей не выявлено.

5. Введение тестируемого препарата в исследуемых дозах не вызывало патологических изменений в надпочечниках самцов и самок экспериментальных животных по результатам оценки, проведённой по окончании периодов введения и отсроченного наблюдения.

6. В рамках изучения иммунотоксических свойств тестируемый препарат, распыляемый на заднюю стенку глотки, не оказал негативного влияния на гематологические и биохимические показатели крови, строение и массовые коэффициенты тимуса, селезёнки и строение подчелюстных лимфатических узлов животных.



**Рис. 3. Микропрепараты для оценки иммунотоксического действия — срезы селезёнки (С).**

*a* — С самца из группы 1; *b* — С самки из группы 1; *c* — С самца из группы 3; *d* — С самки из группы 3. В 4-х препаратах патологические изменения отсутствуют. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение  $\times 100$ .

**Fig. 3. Slides for the assessment of immunotoxic effect – sections of the spleen (C).**

*a* — male from group 1; *b* — female from group 1; *c* — male from group 3; *d* — female from group 3. There were no pathological changes in 4 preparations. Hematoxylin-eosin staining. Magnification  $\times 100$ .

7. Многократное распыление на заднюю стенку глотки тестируемого препарата Диоксидин не вызвало патологических изменений в месте введения и прилежащих тканях животных на 29-й и 59-й дни эксперимента. Признаки местно-раздражающего действия при выбранных путях введения тестируемого препарата отсутствовали.

## Заключение

Результаты проведённого токсикологического исследования показали, что тестируемый

препарат Диоксидин<sup>®</sup>, раствор для местного и наружного применения, 0,25 мг/мл (0,025%) (АО «Валента Фарм», Россия) при многократном распылении на заднюю поверхность глотки в течение 28 дней с периодом отсроченного наблюдения самцам и самкам кроликов породы «Белый великан» обладает удовлетворительным профилем безопасности для применения в широкой клинической практике в качестве препарата безрецептурного отпуска.

## Литература/References

1. Приказ министерства здравоохранения СССР от 29 июня 1976 г. № 647 «О разрешении к медицинскому применению новых лекарственных средств». Доступно по: <https://dozanko.ru/> (Ссылка активна на 10.09.22). / Prikaz ministerstva zdravoohraneniya SSSR ot 29 iyunya 1976 g. № 647 «O razreshenii k medicinskomu primeneniyu novyh lekarstvennyh sredstv». (In Russian). Available at: <https://dozanko.ru/> (Accessed: 10.09.22).

2. Шамкина П.А., Кривопапов А.А., Панченко П.И., Рязанцев С.В. Возможности топической терапии бактериальных ЛОР-инфекций. Медицинский совет. 2021; 18: 44–54. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-18-44-54>. [Shamkina P.A., Krivopalov A.A., Panchenko P.I., Ryazancev S.V. Vozmozhnosti topicheskoy terapii bakterial'nyh LOR-infekcij. Medicinskij Sovet. 2021; 18: 44–54. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-18-44-54>. (in Russian)]
3. Падейская Е. Н. Антибактериальный препарат диоксидин: особенности биологического действия и значение в терапии различных форм гнойной инфекции. Инфекции и антимикроб тер. 2001; 5:

- 150–155. [Padejskaya E. N. Antibakterial'nyj preparat dioksidin: osobennosti biologicheskogo dejstviya i znachenie v terapii razlichnyh form gnojnoj infekcii. *Infekcii i Antimikrob Ter.* 2001; 5: 150–155. (in Russian)].
4. *Крюков А.И., Кунельская Н.Л., Гуров А.В., Изотова Г.Н., Романенко С.Г., Павлихин О.Г. и др.* Возможности антисептических средств в ларингеальной и тонзиллярной патологии. *Медицинский совет.* 2016; 6: 36–40. Доступно по: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=26103969> (Ссылка активна на 10.09.22). [*Kryukov A.I., Kunel'skaya N.L., Gurov A.V., Izotova G.N., Romanenko S.G., Pavlihin O.G. et al.* Vozmozhnosti antisepticheskikh sredstv v laringeal'noj i tonzillyarnoj patologii. *Medicinskij Sovet.* 2016; 6: 36–40. Available at: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=26103969> (Accessed: 10.09.22). (in Russian)].
  5. *Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., Шевчик Е.В., Золотова А.В., Волкова К.Б.* Возможности местного этиотропного лечения больных хроническим тонзиллитом. *Медицинский совет.* 2016; 18: 116–120. Доступно по: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=27474984> (Ссылка активна на 10.09.22). [*Svistushkin V.M., Nikiforova G.N., Shevchik E.V., Zolotova A.V., Volkova K.B.* Vozmozhnosti mestnogo etiotropnogo lecheniya bol'nykh hronicheskim tonzillitom. *Medicinskij Sovet.* 2016; 18: 116–120. Available at: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=27474984> (Accessed: 10.09.22). (in Russian)]
  6. *Овчинников А. Ю., Егян С. С.* Наш опыт этиотропного лечения воспалительных заболеваний наружного и среднего уха. *Российская оториноларингология.* 2021; 20 (6): 115–124. [*Ovchinnikov A. Yu., Egiyan S. S.* Nash opyt etiotropnogo lecheniya vospalitel'nykh zabolevaniy naruzhnogo i srednego uha. *Rossijskaya Otorinolaringologiya.* 2021; 20 (6): 115–124. <https://doi.org/10.18692/1810-4800-2021-6-115-124>. (in Russian)]
  7. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Диоксидин® (рег.№ ЛП-Н(000404)-(РГ-РУ)-281021). Доступно по: [https://grls.rosminzdrav.ru/Grls\\_View\\_v2.aspx?routing-Guid=6d853302-58bb-4044-817c-016b45808420](https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routing-Guid=6d853302-58bb-4044-817c-016b45808420). (Ссылка активна на 10.09.22). [Instrukciya po medicinskomu primeneniyu lekarstvennogo preparata Dioksidin® (reg.№ LP-N(000404)-(RG-RU)-281021). Available at: [https://grls.rosminzdrav.ru/Grls\\_View\\_v2.aspx?routing-Guid=6d853302-58bb-4044-817c-016b45808420](https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routing-Guid=6d853302-58bb-4044-817c-016b45808420). (Accessed: 10.09.22). (in Russian)]
  8. Приказ министерства здравоохранения Российской Федерации от 13 февраля 2013 года № 66 «Об утверждении Стратегии лекарственного обеспечения населения Российской Федерации на период до 2025 года и плана её реализации». Доступно по: <https://base.garant.ru/70317532/> (Ссылка активна на 10.09.22). [Prikaz ministerstva zdoravoohraneniya Rossijskoj Federacii ot 13 fevralya 2013 goda № 66 «Ob utverzhenii Strategii lekarstvennogo obespecheniya naseleniya Rossijskoj Federacii na period do 2025 goda i plana ee realizacii». (In Russian). Available at: <https://base.garant.ru/70317532/> (Accessed: 10.09.22). (in Russian)]
  9. Федеральный закон от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (с изменениями и дополнениями). Доступно по: <http://ivo.garant.ru/#/document/12174909/paragraph/25019:0> (Ссылка активна на 10.09.22). / Federal'nyj zakon ot 12.04.2010 g. № 61-FZ «Ob obrashchenii lekarstvennykh sredstv» (s izmeneniyami i dopolneniyami). Available at: <http://ivo.garant.ru/#/document/12174909/paragraph/25019:0> (Accessed: 10.09.22). (in Russian)]
  10. *Миронов А.Н.* Руководство по доклиническим исследованиям лекарственных средств. Т. 1. М.: ФГБУ «НЦЭСМП», 2012; 942. [*Mironov A.N.* Rukovodstvo po doklinicheskim issledovaniyam lekarstvennykh sredstv. T. 1. Moscow: FGBU «NCEMSP», 2012; 942. (in Russian)]
  11. Решение Совета ЕЭК №81 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств» от 03.11.2016 г. Доступно по: <http://docs.cntd.ru/document/456026101> (Ссылка активна на 10.09.22). [Reshenie Soveta EEK №81 «Ob utverzhenii pravil nadlezhashchej laboratornoj praktiki Evrazijskogo ekonomicheskogo soyuza v sfere obrashcheniya lekarstvennykh sredstv» ot 03.11.2016 g.. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/456026101> (Accessed: 10.09.22). (in Russian)]
  12. Решение Коллегии ЕЭК № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям для обеспечения в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов» от 26.11.2019 г. Доступно по: [https://sudact.ru/law/reshenie-kolleгии-evrazijskoi-ekonomicheskoi-komissii-ot-26112019\\_4/rukovodstvo-po-doklinicheskim-issledovaniyam-bezopasnosti](https://sudact.ru/law/reshenie-kolleгии-evrazijskoi-ekonomicheskoi-komissii-ot-26112019_4/rukovodstvo-po-doklinicheskim-issledovaniyam-bezopasnosti) (Ссылка активна на 10.09.22). / Reshenie Kollegii EEK № 202 «Ob utverzhenii Rukovodstva po doklinicheskim issledovaniyam bezopasnosti v celyakh provedeniya klinicheskikh issledovanij i registracii lekarstvennykh preparatov» ot 26.11.2019 g. Available at: [https://sudact.ru/law/reshenie-kolleгии-evrazijskoi-ekonomicheskoi-komissii-ot-26112019\\_4/rukovodstvo-po-doklinicheskim-issledovaniyam-bezopasnosti](https://sudact.ru/law/reshenie-kolleгии-evrazijskoi-ekonomicheskoi-komissii-ot-26112019_4/rukovodstvo-po-doklinicheskim-issledovaniyam-bezopasnosti) (Accessed: 10.09.22). (in Russian)]
  13. Решение Совета ЕЭК №78 «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения» от 03.11.2016 г. Доступно по: <http://docs.cntd.ru/document/552305024> (Ссылка активна на 10.09.22). / Reshenie Soveta EEK №78 «O Pravilah registracii i ekspertizy lekarstvennykh sredstv dlya medicinskogo primeneniya» ot 03.11.2016 g. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/552305024> (Accessed: 10.09.22). (in Russian)]
  14. Globally harmonized system of classification and labeling of chemicals (GHS). 5<sup>th</sup> revised edition // United Nations. – 2013. – 536 p. Доступно по: [https://unece.org/fileadmin/DAM/trans/danger/publi/ghs/ghs\\_rev05/English/ST-SG-AC10-30-Rev5e.pdf](https://unece.org/fileadmin/DAM/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev05/English/ST-SG-AC10-30-Rev5e.pdf) (Ссылка активна на 10.09.22).
  15. OECD guidelines for testing of chemicals: Repeated dose dermal toxicity: 21/28-day study. OECD guideline for testing chemicals Publishing, Paris. 1981, 410: 1–8. <https://doi.org/10.1787/9789264070745-en>
  16. Директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях / пер. с англ. Под ред. М.С. Красильщиковой, И.В. Белозерцевой. СПб.: 2012; 48. [Direktiva 2010/63/EU Evropejskogo Parlamenta i Soveta Evropejskogo Soyuzo po ohrane zhivotnykh, ispol'zuemykh v nauchnykh celyah / per. s angl. Pod red. M.S. Krasil'shchikovej, I.V. Belozercevoj. Spb.: 2012; 48. (in Russian)].
  17. *Washington I.M., Van Hoosier G.* (2012). Clinical biochemistry and hematology. In: *The laboratory rabbit, Guinea pig, hamster, and other rodents*, pp. 57–116. doi: 10.1016/B978-0-12-380920-9.00003-1.
  18. *Melillo A.* Rabbit clinical pathology. *J Exot Pet Med.* 2007; 16 (3): 135–145. doi: 10.1053/j.jepm.2007.06.002. Epub 2007 Sep 18.

## Информация об авторах

*Журавлёва Марина Владимировна* — д. м. н., профессор, научный отдел клинической фармакологии Института исследований и разработок, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России; профессор, кафедра клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-9198-8661

*Рощина Елизавета Анатольевна* — научный сотрудник отдела специфической токсикологии и фармакодинамики, АО «НПО «Дом Фармации», Ленинградская обл., Россия. ORCID: 0000-0002-9257-4241

*Лосева Екатерина Александровна* — врач-патоморфолог отдела гистологии и патоморфологии, АО «НПО «Дом Фармации», Ленинградская обл., Россия. ORCID: 0000-0002-4668-217X

*Гуров Александр Владимирович* — д. м. н., профессор, кафедра оториноларингологии лечебного факультета, кафедра микробиологии, ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова»; ГБУЗ города Москвы «Научно-исследовательский клинический институт оториноларингологии им. Л. И. Свержевского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия. ORCID: 0000-0001-9811-8397

## About the authors

*Marina V. Zhuravleva* — D. Sc. in medicine, Professor, Scientific Department of Clinical Pharmacology of the Institute of Research and Development, Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation; Professor, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia. ORCID: 0000-0002-9198-8661

*Elizabeth A. Roshchina* — Researcher of the Department of Specific Toxicology and Pharmacodynamics, RMC «HOME OF PHARMACY» JSC, Leningrad region, Russia. ORCID: 0000-0002-9257-4241

*Catherine A. Loseva* — pathologist of the Department of Histology and Pathomorphology, RMC «HOME OF PHARMACY» JSC, Leningrad region, Russia. ORCID: 0000-0002-4668-217X

*Alexander V. Gurov* — D. Sc. in medicine, Professor, Pirogov Russian National Research Medical University; Sverzhnevsky Scientific and Research Otolaryngology Clinical Institute, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0001-9811-8397