

Министерство промышленности и энергетики Российской Федерации  
**ФГУП «ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПО АНТИБИОТИКАМ»**

«Утверждаю»

ВРИО Генерального директора Государственного  
научного Центра по антибиотикам,



*И.А. Василенко*  
И.А. ВАСИЛЕНКО

«*30*» *марта* 2005 года

**Отчет о доклиническом фармакотоксикологическом изучении  
препарата «Офломелид мазь для местного и наружного применения»  
производства ОАО «Синтез»**

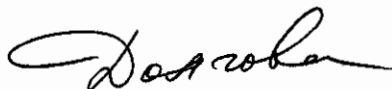
— Москва, 2005 —

## О г л а в л е н и е

I. Список исполнителей	3
II. Введение	4
III. Изучение острой токсичности препарата в опытах на белых мышях и крысах.	5
IV. Изучение токсичности препарата в хроническом эксперименте на кроликах	
1. <i>Материалы и методы</i>	7
2. <i>Влияние препарата на общее состояние животных</i>	10
3. <i>Влияние препарата на биохимические показатели крови животных</i>	11
4. <i>Влияние препарата на картину периферической крови и показатели свертываемости крови</i>	11
5. <i>Результаты морфометрического анализа и патогистологического исследования внутренних органов животных</i>	12
6. <i>Результаты патогистологического исследования кожи животных</i>	13
7. <i>Таблицы</i>	14
V. Заключение	27
<i>Использованная литература</i>	29

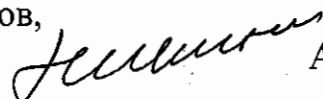
## I. Список исполнителей

Заведующая отделом доклинических исследований  
готовых лекарственных препаратов,  
кандидат биологических наук



Г.В. Долгова

Главный научный сотрудник отдела доклинических  
исследований готовых лекарственных препаратов,  
доктор медицинских наук, профессор



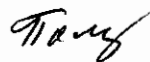
А.В. Никитин

Старший научный сотрудник сектора фармакологии,  
кандидат биологических наук



Т.П. Свиногеева

Научный сотрудник сектора фармакологии



Т.Я. Померанцева

Инженер сектора фармакологии



Е.Д. Борисова

Инженер сектора фармакологии



Г.И. Курицина

Инженер сектора фармакологии



Г.Ю. Якунина

## II. Введение

В экспериментах на белых мышах, крысах и кроликах проводили доклиническое фармакотоксикологическое изучение препарата «Офломелид, мазь для местного и наружного применения» производства ОАО «Синтез». Исследуемая мазь содержит три активных вещества – офлоксацин, метилурацил и лидокаина гидрохлорид, а также пропиленгликоль, полиэтиленоксиды 400 и 1500 в качестве основных компонентов основы.

Исследования проводили в соответствии с методическими рекомендациями Фармакологического Государственного комитета («Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» Москва, 2000) [1].

Белых мышей и крыс получали из питомника «Филиал «Андреевка» ГУ НЦ биомедицинских технологий РАМН». Кроликов получали из питомника ООО «Алькона» (поселок Дубровицы, Московская область). Животных содержали в виварии согласно санитарным правилам [2] и на стандартном рационе в соответствии с приказом МЗ СССР № 1179 от 10.10.83г. [3] с использованием сухого брикетированного корма (ООО «Лабораторснаб», Москва). Работу с животными осуществляли в соответствии с приказом МЗ СССР № 755 от 12.08.77г. [4].

### III. Изучение острой токсичности препарата в опытах на белых мышах и крысах.

Оценку острого токсического кожно-резорбтивного действия испытуемой мази «Офломелид» проводили с помощью «пробирочного метода» в опытах на белых мышах (19-21 г) и крысах (180-200 г) [1]. Для этого животных фиксировали, помещая в специальные индивидуальные домики с отверстиями для хвоста. Предварительно очищенные хвосты подопытных и контрольных животных опускали в пробирки с испытуемой мазью (опыт) или ее основой (контроль) или 0,9% раствором натрия хлорида (контроль). Воздействию подвергали 2 / 3 хвоста животного, что составляет 5% тела. Длительность непрерывного воздействия испытуемого препарата или контрольных составов равнялась 5 часам. Опытные и контрольные группы состояли из 10 особей (5 ♀ и 5 ♂).

О двигательной активности белых мышей через сутки после испытания судили по числу вставаний на задние лапы (вертикальная компонента) в замкнутом пространстве (прозрачный цилиндр) в течение 3 минут. Двигательную активность белых крыс оценивали также через сутки по результатам одновременной регистрации в течение 6 минут числа пересеченных животным квадратов («открытое поле»), числа вставаний на задние лапы (вертикальная компонента) и числа заглядываний в отверстия (норковый рефлекс). Полученные показатели оценивали с помощью непараметрической статистики по методу Вилкоксона-Манна-Уитни при  $p = 0,05$  [6].

На протяжении 14 суток животных неоднократно взвешивали, наблюдали за состоянием их шерстного покрова и слизистых оболочек,

характером выделений, поведенческими реакциями. Статистическую обработку результатов измерения массы тела проводили по методу Стьюдента [7]. Вычисляли среднее значение ( $m$ ) полученных величин и стандартное отклонение ( $Sr$ ).

При наблюдении в течение 14 дней после 5-ти часового воздействия мази «Офломелид» гибели белых мышей или крыс не было зарегистрировано.

В подопытных группах у животных не обнаружено каких-либо отклонений в состоянии кожи хвоста, шерстного покрова, слизистых оболочек, характере выделений, поведенческих реакциях по сравнению с теми же параметрами у животных контрольных групп.

Как видно из данных, представленных в таблицах [1-6], двигательная активность и динамика прироста массы тела у подопытных белых мышей и крыс не отличались от аналогичных показателей для контрольных животных.

Таким образом, в указанных экспериментальных условиях 5-ти часовое непрерывное воздействие на кожу мази «Офломелид» производства ОАО «Синтез» не оказало какого-либо токсического действия на белых мышей и крыс.

#### IV. Изучение токсичности препарата в хроническом эксперименте на кроликах

##### 1. Материалы и методы

Изучение токсичности препарата «Офломелид, мазь для местного и наружного применения» производства ОАО «Синтез» при многократном эпикутанном (накожном) нанесении проводили в хроническом эксперименте на кроликах. Предварительно на спине животных удаляли шерсть на участке *приблизительно*  $56 \text{ см}^2$  ( $7 \text{ см} \times 8 \text{ см}$ ), что равняется 5% от общей поверхности тела. Предельное количество испытуемой мази, которое оказалось *технически* возможным однократно нанести, равномерно распределить и втереть в такой участок неповрежденной кожи кролика, составило 2,0 – 2,5 г. Через 2 – 3 часа кожа становилась сухой, и аппликацию мази повторяли. Суточные дозы испытуемой мази составили для одной группы животных 2 г/кг (*приблизительно* 4 – 5 г на кролика - нанесение в 2-3 приема в течение суток), а для другой 4 г/кг (*приблизительно* 8 – 10 г на кролика - нанесение за 4-5 приемов в течение суток). Первая доза в пересчете по поверхности тела была эквивалентна, а вторая в два раза превышала максимальную суточную дозу мази 40 г для человека, указанную в инструкции по медицинскому применению.

Согласно инструкции по медицинскому применению препарат предполагается применять в течение 1-2 недели, что определило длительность проведения эксперимента на животных – 1 месяц ■■■.

На кожу животных одной контрольной группы наносили основу мази в дозе 4 г/кг, а кожу животных другой контрольной группы в таких же условиях обрабатывали 0,9% раствором натрия хлорида.

Каждая подопытная и контрольная группы состояли из 5 особей обоего пола с исходной массой тела ♀ -  $2,10 \pm 0,08$  кг и ♂ -  $2,18 \pm 0,20$  кг.

На протяжении эксперимента регистрировали изменения массы тела у животных, следили за состоянием кожи на обрабатываемом участке, а также общего шерстного покрова и слизистых оболочек, характером выделений, поведенческими реакциями. Кроме того, проводили ректальное измерение температуры тела с помощью электронного термометра с термочувствительным датчиком с точностью до  $0,1^{\circ}\text{C}$ . Определение температуры проводили до утреннего кормления животных.

После окончания курса введения препарата у животных брали кровь для определения следующих биохимических показателей: содержания общего белка, мочевины, креатинина, триглицеридов, активности аспаратаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы.

Концентрацию общего белка определяли биуретовым методом с использованием набора реактивов «Диахим - общий белок» НПФ «Абрис+». Концентрацию мочевины определяли фотометрически Дам-методом с применением набора «Merkotest 3341». Концентрацию креатинина определяли с применением набора «Диахим – креатинин» НПФ «Абрис+» по методу, основанному на фотометрическом выявлении окрашенных продуктов взаимодействия креатинина с пикриновой кислотой в щелочной среде. Активность аспаратаминотрансферазы определяли фотометрически с применением набора Merkotest 14129 по степени ее ферментативной активности в реакции аспарата с 2-оксиглутаратом. Активность аланинаминотрансферазы определяли фотометрически с применением набора Merkotest 14330 по степени ее ферментативной активности в реакции аланина с 2-оксиглутаратом. Активность щелочной фосфатазы определяли фотометрически с применением наборов Merkotest 3304 по степени ее ферментативной активности в гидролизе п-нитрофенилфосфата.

Содержание триглицеридов в сыворотке крови определяли фотометрически с применением набора «Диахим – триглицериды» НПФ «Абрис +» по методу, основанному на их ферментативном гидролизе под действием смеси энзимов. Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре «Specol 221» (ФРГ).

При исследовании картины периферической крови у крыс определяли содержание гемоглобина и уровень гематокрита, подсчитывали число эритроцитов, ретикулоцитов, тромбоцитов, лейкоцитов и лейкоцитарную формулу. Показатели свертываемости крови регистрировали с помощью тромбозластографа (Япония).

На следующие сутки после окончания курса введения препаратов животных подвергали эвтаназии, вскрывали, проводили макроскопическое исследование кожи и внутренних органов животных, а также осуществляли морфометрический анализ с определением абсолютной массы внутренних органов и расчетом их относительной массы. Для гистологического исследования кусочки брали кусочки кожи и органов, фиксировали их в 10% растворе формалина. Срезы органов готовили общепринятыми методами с заливкой в парафин и окраской гематоксилин – эозином [8].

Статистическую обработку полученных результатов проводили по методу Стьюдента [7]. Вычисляли среднее значение ( $m$ ) полученных величин и стандартное отклонение ( $Sr$ ).

## 2. Влияние препарата на общее состояние животных.

Ежедневное нанесение мази «Офломелид» производства ОАО «Синтез» на участок кожи кролики переносили без каких-либо признаков интоксикации.

Наблюдение за подопытными животными в течение всего эксперимента не выявило отклонений в их внешнем виде, состоянии шерстного покрова, характере выделений, поведенческих реакциях по сравнению с животными контрольных групп. На обрабатываемой испытываемым препаратом участке кожи подопытных животных не появлялась эритема или гиперемия, не возникал отек.

Результаты измерения массы животных приведены в таблицах 7 и 8. Анализ данных показал, что многократное нанесение мази в обеих дозах на кожу животных не влияло на динамику прироста массы тела у самок и у самцов по сравнению с контролем.

Изменения температуры тела животных, зарегистрированные на протяжении курса нанесения испытываемого препарата, приведены в таблицах 9 и 10. Из данных таблицы видно, что воздействие мази в обеих суточных дозах не приводило к колебаниям температуры тела у кроликов, отличающихся от физиологической нормы, и от изменений аналогичных показателей для контрольных животных.

### 3. Влияние препарата на биохимические показатели крови животных.

Величины биохимических показателей крови кроликов, взятой у них на следующие сутки после последней аппликации испытуемой мази, представлены в таблицах 11 и 12.

Уровни белка, аспаратаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы, креатинина, мочевины и триглицеридов в сыворотке крови у подопытных кроликов не отличались от аналогичных показателей для контрольных животных.

### 4. Влияние препарата на картину периферической крови и показатели свертываемости крови.

В таблицах 13 - 16 представлены результаты изучения картины периферической крови, определения лейкоцитарной формулы и показателей свертываемости крови. Полученные данные показали отсутствие изменений в изученных гематологических показателях у кроликов, которым наносили на кожу в течение 1 месяца испытуемый препарат «Офломелид» в дозах 2 г/кг и 4 г/кг по сравнению с аналогичными показателями у животных в контрольных группах.

5. Результаты морфометрического анализа и патогистологического исследования внутренних органов животных.

При макроскопическом исследовании внутренних органов (сердца, легких, почек, селезенка, желудка, кишечника) кроликов обоего пола после месячного курса нанесения испытуемой мази «Офломелид» в обеих дозах визуальных патологических изменений не было обнаружено. Сердце, селезенка, легкие, печень, поджелудочная железа, тимус имели нормальную окраску и были умеренно полнокровными. Желудок и кишечник - нормального вида.

Как видно из данных таблиц 17 и 18, проведенный морфометрический анализ не выявил отличий в относительной массе внутренних органов подопытных животных от аналогичных показателей для контрольных животных.

Патоморфологическое и патогистологическое исследование не выявило существенных изменений в изученных органах и тканях подопытных кроликов, после воздействия исследуемого препарата в обеих дозах, по сравнению таковыми у контрольных животных.

У животных, как в подопытных, так и в контрольных группах гистологическая картина тканей органов была следующей.

**Сердце.** Эпикард, эндотелий, подэндотелиальный слой, миокард — без изменений. Кардиомиоциты сохраняли нормальное строение. Капилляры миокарда умеренного кровенаполнения.

**Легкие.** Сохранена нормальная структура эпителия слизистой оболочки бронхов. Подслизистая основа, фиброзно-хрящевая и адвентициальная оболочка без изменений. Альвеолярные ходы и мешочки нормальных размеров. Капиллярная сеть умеренного кровенаполнения.

**Печень.** Сохранена дольчатая структура органа и ядра гепатоцитов. Пространства Диссе и межуточная ткань без изменений. Сосуды полнокровны. Междольковые трабекулы без изменений. Капиллярная сеть умеренного кровенаполнения. Строение эндотелия сосудов нормальное. Отмечено типичное расположение купферовских клеток.

**Селезенка.** Сохранена нормальная структура капсулы. Трабекулы имеют нормальное строение и размеры. Соотношение белой и красной пульпы не выходит за пределы нормальных физиологических колебаний. Лимфатические фолликулы селезенки без изменений. Центральные артерии умеренного кровенаполнения. Центральные, пульпарные и артерии, проникающие в трабекулы, умеренного кровенаполнения. Эндотелий синусов и сосудов нормального строения. Артериальные гемокапилляры без изменений.

**Почки.** Отмечено типичное четкое деление на корковый и мозговой слои. В мозговом веществе сохраняется нормальное пирамидальное строение. Почечные канальцы и клубочки без изменений. Сохраняется нормальное кровенаполнение дуговых, терминальных, междольковых и прямых артерий. Венозная система без изменений. На границе коркового и мозгового слоев отмечается пролиферация интерстициальной ткани.

#### 6. Результаты патогистологического исследования кожи животных.

Гистологическое изучение срезов кожи на месте многократной аппликации мази «Офломелид», как в дозе 2 г/кг, так и в дозе 4 г/кг, не выявило у большинства животных патологических изменений, связанных с раздражающим действием препарата. Эпидермис, как правило, был сохранен. Явления гиперемии, отека и воспалительной инфильтрации отсутствовали. Соединительная ткань сетчатого слоя имела нормальное строение. Выводные протоки потовых желез не были расширены. В подкожной клетчатке также не было обнаружено каких-либо существенных изменений. Лишь у одного животного после нанесения мази в дозе 4 г/кг было отмечено незначительное раздражающее действие, морфологически выражающееся в возникновении мелкоочаговой воспалительной инфильтрации в субэпидермальном слое.

При нанесении основы мази, также, как физиологического раствора, (контрольные группы) также не было отмечено морфологических изменений в коже животных, свидетельствующих о местно раздражающем действии.

Таблица 1

Двигательная активность и динамика прироста массы  
белых мышей - самок после 5-ти часового эпикутанного воздействия  
мази "Офломелид" производства ОАО "Синтез"

Препарат, доза	Вставания * через сутки после воздействия	Масса животных в % от исходной через:					
		5 суток		10 суток		14 суток	
		% от исх.	Sr	% от исх.	Sr	% от исх.	Sr
<i>Контроль, раствор натрия хлорида 0,9%</i>	26,4	107,2	2,01	114,3	3,46	123,4	3,52
<i>Контроль, основа мази</i>	27,4	106,0	0,65	114,4	2,03	123,8	2,58
Мазь "Офломелид"	20,2	112,0	6,21	119,5	2,99	126,2	4,26

Таблица 2

Двигательная активность и динамика прироста массы  
белых мышей - самцов после 5-ти часового эпикутанного воздействия  
мази "Офломелид" производства ОАО "Синтез"

Препарат, доза	Вставания * через сутки после воздействия	Масса животных в % от исходной через:					
		5 суток		10 суток		14 суток	
		% от исх.	Sr	% от исх.	Sr	% от исх.	Sr
<i>Контроль, раствор натрия хлорида 0,9%</i>	21,2	113,7	3,13	120,7	2,21	130,5	0,59
<i>Контроль, основа мази</i>	20,8	110,4	5,67	120,3	4,26	132,4	4,66
Мазь "Офломелид"	20,6	117,1	5,60	121,1	4,53	127,6	5,05

\* Различия с контролем недостоверны при оценке по методу Вилкоксона-Манна-Уитни при  $p=0,05$

Таблица 3

Двигательная активность\* **белых крыс - самцов**  
через сутки после 5-ти часового эпидермального воздействия  
мази "Офломелид" производства ОАО "Синтез"

Препарат, доза	Число пересеченных квадратов	Число вставаний	Число заглядываний в отверстия
<i>Контроль, раствор натрия хлорида 0,9%</i>	17,8	8,0	10,6
<i>Контроль, основа мази</i>	13,2	6,8	8,8
Мазь "Офломелид"	16,0	10,0	10,2

Таблица 4

Двигательная активность\* **белых крыс - самок**  
через сутки после 5-ти часового эпидермального воздействия  
мази "Офломелид" производства ОАО "Синтез"

Препарат, доза	Число пересеченных квадратов	Число вставаний	Число заглядываний в отверстия
<i>Контроль, раствор натрия хлорида 0,9%</i>	28,6	13,8	14,4
<i>Контроль, основа мази</i>	22,0	11,8	13,4
Мазь "Офломелид"	20,4	17,6	13,2

Таблица 5

**Изменение массы белых крыс-самок**  
на протяжении 14 суток после 5-ти часового эпикутанного воздействия  
мази "Офломелид" производства ОАО "Синтез"

Препарат, доза	Масса тела животных в % от исходной через:			
	7 суток		14 суток	
	% от исх.	Sr	% от исх.	Sr
<i>Контроль, раствор натрия хлорида 0,9%</i>	109,5	2,32	116,9	1,61
<i>Контроль, основа мази</i>	110,0	2,27	114,7	1,47
<b>Мазь "Офломелид"</b>	110,6	2,88	117,0	2,69

Таблица 6

**Изменение массы белых крыс-самцов**  
на протяжении 14 суток после 5-ти часового эпикутанного воздействия  
мази "Офломелид" производства ОАО "Синтез"

Препарат, доза	Масса тела животных в % от исходной через:			
	7 суток		14 суток	
	% от исх.	Sr	% от исх.	Sr
<i>Контроль, раствор натрия хлорида 0,9%</i>	115,0	4,62	123,9	4,12
<i>Контроль, основа мази</i>	114,3	2,48	126,0	4,58
<b>Мазь "Офломелид"</b>	114,5	5,25	125,7	6,26

## Изменение массы кроликов-самцов на протяжении курса нанесения на кожу

мази "Офломелид" производства ОАО "Синтез"

Препарат, доза	Масса тела животных [в % от исходной] через:											
	7 дней			14 дней			21 день			28 дней		
	% от исх.	St	% от исх.	St	% от исх.	St	% от исх.	St	% от исх.	St		
<i>Контроль, раствор натрия хлорида 0,9%</i>	108,5	1,9	114,8	2,8	122,4	3,7	130,4	4,3				
<i>Контроль, основа мази</i>	109,4	3,8	118,1	6,5	124,1	6,2	133,1	5,9				
<i>Мазь "Офломелид" 2 г/кг</i>	108,7	4,7	115,7	3,8	122,6	3,6	131,0	6,1				
<i>Мазь "Офломелид" 4 г/кг</i>	108,6	3,1	116,2	4,8	126,6	4,2	130,5	5,8				

Таблица 8

## Изменение массы кроликов-самок на протяжении курса нанесения на кожу

мази "Офломелид" производства ОАО "Синтез"

Препарат, доза	Масса тела животных [в % от исходной] через:											
	7 дней			14 дней			21 день			28 дней		
	% от исх.	St	% от исх.	St	% от исх.	St	% от исх.	St	% от исх.	St		
<i>Контроль, раствор натрия хлорида 0,9%</i>	106,8	3,6	112,9	4,2	116,8	6,7	122,1	7,1				
<i>Контроль, основа мази</i>	107,3	0,3	113,1	3,1	118,3	3,3	122,7	3,1				
<i>Мазь "Офломелид" 2 г/кг</i>	108,4	5,3	114,5	5,0	120,6	3,9	124,8	2,2				
<i>Мазь "Офломелид" 4 г/кг</i>	105,3	3,0	111,6	3,1	115,9	3,4	121,7	3,2				

Ректальная температура кроликов-самцов на протяжении курса нанесения на кожу мази "Офломелид" производства ОАО "Синтез"

Препарат, доза	Температура тела у животных [°С]											
	исходная		через 7 дней		через 14 дней		через 21 день		через 28 дней			
	m	Sr	m	Sr	m	Sr	m	Sr	m	Sr		
<i>Контроль, раствор натрия хлорида 0,9%</i>	39,28	0,16	39,30	0,10	39,28	0,13	39,26	0,09	39,22	0,08		
<i>Контроль, основа мази</i>	39,34	0,13	39,46	0,17	39,32	0,15	39,36	0,15	39,30	0,07		
<i>Мазь "Офломелид" 2 г/кг</i>	39,30	0,10	39,36	0,09	39,28	0,04	39,28	0,08	39,32	0,08		
<i>Мазь "Офломелид" 4 г/кг</i>	39,22	0,13	39,34	0,11	39,26	0,05	39,28	0,15	39,32	0,11		

Таблица 10

Ректальная температура кроликов-самок на протяжении курса нанесения на кожу

мази "Офломелид" производства ОАО "Синтез"

Препарат, доза	Температура тела у животных [°С]											
	исходная		через 7 дней		через 14 дней		через 21 день		через 28 дней			
	m	Sr	m	Sr	m	Sr	m	Sr	m	Sr		
<i>Контроль, раствор натрия хлорида 0,9%</i>	39,28	0,16	39,22	0,04	39,26	0,13	39,34	0,17	39,24	0,11		
<i>Контроль, основа мази</i>	39,26	0,09	39,34	0,13	39,38	0,08	39,40	0,14	39,32	0,08		
<i>Мазь "Офломелид" 2 г/кг</i>	39,14	0,05	39,38	0,22	39,32	0,16	39,36	0,11	39,28	0,08		
<i>Мазь "Офломелид" 4 г/кг</i>	39,20	0,10	39,30	0,14	39,20	0,12	39,38	0,13	39,36	0,05		

Биохимические показатели крови кроликов - самцов после курса  
нанесения на кожу мази "Офломелид" производства ОАО "Синтез"

Показатели	Контроль <i>основа мази</i>		Контроль, <i>раствор натрия хлорида 0,9%</i>		Мазь "Офломелид"			
	m	Sr	m	Sr	2 г/кг		4 г/кг	
					m	Sr	m	Sr
Общий белок, мг/мл	59,8	5,2	59,2	5,3	60,4	3,2	61,1	6,0
Аспартатаминотрансфераза, ЕД/л	39,8	3,7	38,7	2,9	38,3	2,5	39,9	5,8
Аланинаминотрансфераза, ЕД/л	36,7	2,6	35,7	3,0	35,3	2,4	33,9	5,8
Щелочная фосфатаза, ЕД/л	42,5	3,6	41,3	3,9	41,1	3,5	43,6	4,7
Мочевина, мг/дл	41,3	6,0	42,5	5,4	41,0	5,3	42,9	6,2
Креатинин, мкмоль/л	110,2	6,1	107,1	10,0	108,6	10,1	106,4	7,5
Триглицериды, мг/дл	72,4	9,8	70,2	9,5	74,0	8,0	71,6	8,4

**Биохимические показатели крови кроликов - самок после курса  
нанесения на кожу мази "Офломелид" производства ОАО "Синтез"**

Показатели	Контроль <i>основа мази</i>		Контроль, <i>раствор натрия хлорида 0,9%</i>		Мазь "Офломелид"			
	m	Sr	m	Sr	2 г/кг		4 г/кг	
					m	Sr	m	Sr
Общий белок, мг/мл	58,6	5,3	60,2	4,2	58,2	4,9	60,2	4,7
Аспартагтаминотрансфераза, ЕД/л	37,7	9,2	36,2	5,6	37,9	7,1	39,1	4,1
Аланинаминотрансфераза, ЕД/л	34,1	2,1	33,2	3,2	35,3	4,4	33,6	3,9
Щелочная фосфатаза, ЕД/л	39,0	5,0	39,5	4,2	41,0	4,0	40,9	7,9
Мочевина, мг/дл	38,9	5,0	37,7	3,7	37,7	5,3	40,8	6,1
Креатинин, мкмоль/л	104,9	5,8	98,2	6,4	105,4	10,1	102,1	6,3
Триглицериды, мг/дл	70,7	7,2	67,5	6,8	71,8	6,4	67,3	6,6

Таблица 13

Показатели периферической крови кроликов-самок после курса нанесения на кожу мази "Офломелид" производства ОАО "Синтез"

Препарат, доза	Гемоглобин, г/л		Гематокрит, %		Эритроциты $10^{12}/л$		Лейкоциты $10^9/л$		Тромбоциты $10^9/л$		Ретикулоциты о/оо	
	m	Sr	m	Sr	m	Sr	m	Sr	m	Sr	m	Sr
Контроль, раствор натрия хлорида 0,9%	146,0	3,3	47,2	1,9	5,6	0,3	10,1	1,0	606,0	57,3	19,6	2,1
Контроль, основа мази	144,6	3,8	45,2	2,3	5,9	0,5	9,1	2,4	592,0	43,2	20,4	3,8
Мазь "Офломелид" 2 г/кг	146,6	6,7	46,4	2,5	5,6	0,3	8,9	2,1	614,0	41,6	19,4	3,1
Мазь "Офломелид" 4 г/кг	147,6	2,1	45,4	2,1	6,0	0,3	8,7	2,3	576,0	74,4	21,2	1,9

Таблица 14

Показатели периферической крови кроликов-самцов после курса нанесения на кожу мази "Офломелид" производства ОАО "Синтез"

Препарат, доза	Гемоглобин, г/л		Гематокрит, %		Эритроциты $10^{12}/л$		Лейкоциты $10^9/л$		Тромбоциты $10^9/л$		Ретикулоциты о/оо	
	m	Sr	m	Sr	m	Sr	m	Sr	m	Sr	m	Sr
<i>Контроль, раствор натрия хлорида 0,9%</i>	147,4	2,4	46,2	1,3	6,0	0,2	9,4	0,5	620,0	30,8	22,4	1,1
<i>Контроль, основа мази</i>	147,4	6,5	44,6	2,1	5,8	0,6	8,4	1,1	560,0	43,0	19,8	1,3
<i>Мазь "Офломелид" 2 г/кг</i>	152,2	8,1	44,4	2,1	6,0	0,3	9,4	2,0	586,0	58,1	21,4	2,5
<i>Мазь "Офломелид" 4 г/кг</i>	140,0	8,0	42,4	2,3	5,7	0,5	7,9	1,9	576,0	35,1	20,0	3,4

Лейкоцитарная формула и свертываемость крови кроликов - самок  
после курса нанесения на кожу мази "Офлометид" производства ОАО "Синтез"

Препарат, доза	Палочкоядерные лейкоциты %		Сегментоядерные лейкоциты %		Эозинофилы %		Лимфоциты %		Свертываемость крови (сек)	
	m	Sr	m	Sr	m	Sr	m	Sr	m	Sr
<i>Контроль, раствор натрия хлорида 0,9%</i>	5,8	0,4	21,2	1,9	3,4	0,9	66,4	3,0	579,0	66,0
<i>Контроль, основа мази</i>	7,0	1,6	21,0	2,3	3,0	1,4	69,2	3,0	548,0	51,1
<i>Мазь "Офлометид" 2 г/кг</i>	5,6	2,1	21,6	1,8	2,8	1,3	68,4	1,8	539,0	51,5
<i>Мазь "Офлометид" 4 г/кг</i>	5,4	1,1	22,0	2,6	3,0	0,7	66,8	1,6	572,4	55,2

Лейкоцитарная формула и свертываемость крови кроликов - самцов  
после курса нанесения на кожу мази "Офломелид" производства ОАО "Синтез"

Препарат, Доза	Палочкоядерные лейкоциты %		Сегментоядерные лейкоциты %		Эозинофилы %		Лимфоциты %		Свертываемость крови (сек)	
	m	sr	m	sr	m	sr	m	sr	m	sr
<i>Контроль, раствор натрия хлорида 0,9%</i>	6,8	1,5	22,6	1,8	3,2	0,4	64,0	2,5	535,2	35,1
<i>Контроль, основа мази</i>	7,2	1,3	22,8	2,2	2,6	1,1	67,4	3,8	486,6	37,5
<i>Мазь "Офломелид" 2 г/г</i>	7,0	1,6	24,2	3,2	2,8	0,8	65,4	3,8	506,4	20,4
<i>Мазь "Офломелид" 4 г/г</i>	7,2	1,9	23,0	2,4	3,2	1,1	66,6	3,0	512,0	73,5

Таблица 17

Относительная масса внутренних органов кроликов-самцов (мг/100 г)  
после курса нанесения на кожу мази "Офломелид" производства ОАО "Синтез"

Органы	Контроль, раствор нитрия хлорида 0,9%		Контроль, основа мази		Мазь "Офломелид"			
	m	Sr	m	Sr	2 г/кг		4 г/кг	
					m	Sr	m	Sr
Сердце	264,9	52,0	220,3	42,7	237,6	38,3	249,7	24,9
Легкое	411,9	29,0	347,2	21,1	379,7	40,6	400,4	76,5
Печень	4291,1	364,2	4036,6	474,4	3915,0	682,1	4342,2	364,5
Почки	662,5	85,0	564,5	69,0	575,1	47,7	644,9	64,6
Селезенка	56,9	9,2	50,0	16,7	53,7	15,3	52,1	14,9

Таблица 18

Относительная масса внутренних органов кроликов-самок (мг/100 г) после курса нанесения мази "Офломелид" производства ОАО "Синтез"

Органы	Контроль, раствор натрия хлорида 0,9%		Контроль, основа мази		Мазь "Офломелид"			
	m	Sr.	m	Sr.	2 г/кг		4 г/кг	
					m	Sr.	m	Sr.
Сердце	244,2	20,1	259,2	31,8	244,0	28,4	272,7	19,2
Легкое	387,8	20,8	403,6	36,4	396,5	21,7	377,2	67,0
Печень	4762,4	265,0	4532,8	667,7	4278,5	362,7	4654,3	477,5
Почки	662,9	49,8	655,6	54,2	624,7	36,6	677,5	53,1
Селезенка	60,8	8,3	65,5	5,4	62,0	4,9	62,5	13,3

## В. Заключение

В экспериментах на белых мышах, крысах и кроликах проведено доклиническое фармакотоксикологическое изучение препарата «Офломелид, мазь для местного и наружного применения» производства ОАО «Синтез». Исследуемая мазь содержит три активных вещества – офлоксацин, метилурацил и лидокаина гидрохлорид, а также пропиленгликоль, полиэтиленоксида 400 и 1500 в качестве основных компонентов основы.

При оценке острого токсического кожно-резорбтивного действия испытуемой мази «Офломелид», проведенной с помощью «пробирочного метода» в опытах на белых мышах (19-21 г) и крысах (180-200 г), было показано, что ее непрерывное в течение 5-ти часов воздействие на кожу хвоста животных (5% от поверхности тела) не оказывает какого-либо токсического действия.

В хроническом эксперименте испытуемый препарат наносили кроликам на освобожденный от шерсти участок спины  $56 \text{ см}^2$  (7 см × 8 см), что составляло 5% от общей поверхности тела. Предельное количество испытуемой мази, которое оказалось *технически* возможным однократно нанести на такой участок кожи, равнялось 2,0 – 2,5 г. Поэтому в течение суток мазь наносили несколько раз в суточной дозе для одной группы животных - 2 г/кг, а для другой - 4 г/кг. Первая доза в пересчете по поверхности тела была эквивалентна, а вторая в два раза превышала максимальную суточную дозу мази 40 г для человека, указанную в инструкции по медицинскому применению.

Препарат предполагается применять в медицинской практике в течение 1-2 недели, поэтому длительность эксперимента на животных составила

1 месяц. На кожу животных одной контрольной группы наносили основу мази в дозе 4 г/кг, а кожу животных другой контрольной группы в таких же условиях обрабатывали 0,9% раствором натрия хлорида.

При наблюдении за животными, получавшими испытуемый препарат, не было обнаружено отклонений в их внешнем виде, состоянии шерстного покрова, характере выделений, поведенческих реакциях. Обрабатываемая препаратом кожа подопытных животных не была гиперемирована или отечна.

Динамика прироста массы тела у подопытных кроликов не отличалась от аналогичного показателя для контрольных животных. Колебания температуры тела у них не превышали физиологическую норму.

После эпикутанного ежедневного воздействия испытуемого препарата в обеих дозах в течение 1 месяца у кроликов в сыворотке крови не было обнаружено каких-либо отклонений по сравнению с контролем в уровнях биохимических показателей (белок, аспаратаминотрансфераза и аланинаминотрансфераза, щелочная фосфатаза, креатинин, мочевины), характеризующих состояние печени и почек.

В картине периферической крови, лейкоцитарной формуле и свертываемости крови у подопытных животных не было выявлено существенных отличий от подобных показателей для контрольной группы.

При макроскопическом исследовании внутренних органов, а также при морфометрическом анализе их относительной массы, у подопытных кроликов патологических изменений по сравнению с аналогичными показателями для контрольных животных не было отмечено.

Патоморфологическое и патогистологическое исследование не обнаружило существенных изменений в органах и тканях подопытных кроликов. Тщательное гистологическое изучение срезов кожи на месте многократной аппликации мази «Офломелид» в дозе 2 г/кг и 4 г/кг, а также ее

основы не обнаружило каких-либо признаков их местно раздражающего действия.

Таким образом, при доклиническом изучении мази «Офломелид» производства ОАО «Синтез» в хроническом эксперименте на кроликах в условиях ежедневного кожного нанесения в течение месяца в дозах, превышающих величину, эквивалентную при пересчете по поверхности тела суточной терапевтической дозировке для человека, не было обнаружено каких-либо токсических свойств.

#### *Использованная литература*

1. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ.* М.: 2000.
2. *Приказ МЗ СССР № 1045-73 от 6.04.73. «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)».*
3. *Приказ МЗ СССР №1179 от 10. 10. 83. « Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения»*
4. *Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 года «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных».*
5. *«Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование предельно допустимых уровней загрязнений кожи».* Методические указания. М. 1980.
6. *Малета Ю.С., Тарасов В.В. Непараметрические методы статистического анализа в биологии и медицине. - М. Изд-во Моск. ун-та, 1982.*
7. *Бейли Н. Статистические методы в биологии. Изд-во АН СССР - М. 1962.*
8. *Ромейс Б. Микроскопическая техника. М 1953.*