



Е.О. Степанюк   
Н.П. Неугодова 

## Рекомендации по выбору тест-дозы для проведения испытания по показателю «Аномальная токсичность»

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

### РЕЗЮМЕ

Проведение теста на аномальную токсичность позволяет определить наличие неожиданных токсических примесей в препаратах для парентерального применения и фармацевтических субстанциях природного происхождения. В соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации для получения достоверных результатов необходимо соблюдение всех параметров испытания, наиболее важным из которых является тест-доза лекарственного средства. Экспертами ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России предложены рекомендации по ее выбору. Корректно подобранная тест-доза позволит получать надежные результаты испытания и гарантировать безопасность применения испытуемых препаратов.

**Ключевые слова:** аномальная токсичность; параметры испытания; тест-доза; пересчет доз; максимально переносимая доза

**Для цитирования:** Степанюк Е.О., Неугодова Н.П. Рекомендации по выбору тест-дозы для проведения испытания по показателю «Аномальная токсичность». *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2022;12(2):124–126. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-2-124-126>

E.O. Stepanuk   
N.P. Neugodova 

## Recommendations for Choosing a Test Dose for Abnormal Toxicity Testing

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,  
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

### ABSTRACT

Abnormal toxicity testing helps to detect unexpected toxic impurities in medicinal products for parenteral use and in the corresponding active pharmaceutical ingredients of natural origin. In accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation and in order to obtain reliable results, all test parameters, the most important of which is the test dose, should be correct. In this paper, the experts of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products offer their recommendations on range finding. A correct test dose will provide reliable analytical results and ensure the safety of the evaluated medicinal products.

**Key words:** abnormal toxicity; test parameters; test dose; dose conversion; maximum tolerated dose

**For citation:** Stepanuk E.O., Neugodova N.P. Recommendations for choosing a test dose for abnormal toxicity testing. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv = Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation.* 2022;12(2):124–126. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-2-124-126>

Испытание на аномальную токсичность является универсальным методом определения токсических примесей. Соблюдение условий проведения испытания – гарантия получения достоверных и надежных результатов. Только правильно подобранная доза позволяет эффективно использовать данный показатель. Тест-доза в испытании на аномальную токсичность – это доза испытуемого образца, близкая к максимально переносимой (МПД), которая не вызывает гибели животных, но может сопровождаться признаками интоксикации. Ее выбор должен быть экспериментально обоснован. Величину тест-дозы для каждого конкретного лекарственного средства следует определять на этапе доклинических исследований. При изучении острой токсичности на мышах определяют переносимые, токсические и летальные дозы (ЛД<sub>0</sub>, ЛД<sub>50</sub> и ЛД<sub>100</sub>). Обязательными расчетными токсиметрическими показателями являются ЛД<sub>10</sub>, ЛД<sub>16</sub>, ЛД<sub>50</sub> и ЛД<sub>86</sub> (табл. 1).

В соответствии с представленными данными тест-доза для показателя «Аномальная токсичность» должна находиться в диапазоне между 30 и 50 мг на мышь. Выбор конкретной дозы должен быть установлен после испытаний трех серий препарата на 10 животных (5 самцов и 5 самок).

Таким образом, если испытуемый образец не загрязнен токсическими примесями, то при введении тест-объекту выбранной дозы гибель животных не должна превышать 10% (т.е. допустима гибель 1 из 10 особей). Если наблюдается гибель двух или более животных из десяти, это говорит о наличии неожиданных примесей и аномальной токсичности препарата.

В случае проведения испытания с неверно подобранными условиями утрачивается смысл

и значение теста для определения безопасности препарата. Особое внимание при выборе тест-дозы следует обратить на скорость введения при внутривенном пути, которая должна составлять 0,1 мл/с. Уменьшение скорости введения приводит к получению недостоверных данных (табл. 2).

Если испытуемое средство невозможно ввести в дозе, близкой к МПД, то расчет ведется на основании терапевтической дозы, указанной в инструкции по медицинскому применению, с учетом коэффициентов видовой специфичности и увеличения полученной дозы в 10–12 раз, чтобы терапевтическую дозу увеличить до токсической.

Используя коэффициенты межвидового пересчета доз, можно установить требуемые оптимальные параметры. Существует несколько способов переноса доз с человека на животного. Основными являются расчет на единицу поверхности или единицу массы тела человека. Наиболее подробно можно ознакомиться с ними в Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ<sup>1</sup>.

Если доза слишком мала и не может быть увеличена из-за фармакологического действия препарата, дозировки или лекарственной формы, а также физико-химических свойств, то тест неэффективен. Так же для испытуемых образцов, имеющих узкий коридор безопасности, применение теста на аномальную токсичность нецелесообразно. Объем вводимой дозы не должен превышать физиологически допустимой величины.

При введении показателя «Аномальная токсичность» в регистрационном досье требуется обоснование выбора дозы с указанием ЛД<sub>10</sub>

**Таблица 1.** Показатели острой токсичности субстанции кларитромицин в опытах на белых мышах при внутривенном введении со скоростью 0,1 мл/с

**Table 1.** Indicators of acute toxicity of the active pharmaceutical ingredient (API) clarithromycin administered intravenously to white mice at a rate of 0.1 mL/s

| Частота* гибели животных после введения субстанции в дозах (мг/мышь)<br><i>Frequency* of death after administration of the API in the following doses (mg/mouse)</i> |      |      |      |       | Расчетные показатели (мг/мышь)<br><i>Estimated indicators (mg/mouse)</i>   |
|--|------|------|------|-------|--|
| 30   | 40   | 50   | 75   | 100   |  |
| 0/15   | 0/15 | 1/15 | 7/15 | 14/15 | ЛД <sub>10</sub> (LD <sub>10</sub> ) = 50,7<br>ЛД <sub>16</sub> (LD <sub>16</sub> ) = 55,1<br>ЛД <sub>84</sub> (LD <sub>84</sub> ) = 97,7<br>ЛД <sub>50</sub> (LD <sub>50</sub> ) = 73,3 (65,9–81,5) |

\* Число погибших животных / число мышей, взятых в опыт.

\* Number of dead mice/total number of mice in the experiment.

<sup>1</sup> Хабриев Р.У., ред. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина; 2005.

**Таблица 2.** Результаты испытания на аномальную токсичность образцов субстанций «Цефтриаксон» зарубежных производителей, в дозе 30 мг/мышь при различной скорости введения

**Table 2.** Results of abnormal toxicity testing of the active pharmaceutical ingredient (API) ceftriaxone by foreign manufacturers, administered at a dose of 30 mg/mouse at different rates

| Производитель<br><i>Manufacturer</i>   | № 1  | № 2               | № 3                  | № 4                | № 5                 |
|--|--|-------------------|----------------------|--------------------|---------------------|
| Скорость введения (время введения)<br><i>Injection rate (injection time)</i> | Частота гибели* после введения образцов субстанций<br><i>Death rate* after administration of API samples</i> |                   |                      |                    |                     |
| 0,1 мл/с (5 с)<br><i>0.1 mL/s (5 s)</i>                                      | 0/5  | 0/5 <sup>**</sup> | 3/10 <sup>****</sup> | 1/10 <sup>**</sup> | 2/10 <sup>***</sup> |
| 0,1 мл/3 с (15 с)<br><i>0.1 mL/3 s (15 s)</i>                                | 0/5  | 0/5               | 0/5                  | 0/5                | 0/5                 |
| 0,1 мл/6 с (30 с)<br><i>0.1 mL/6 s (30 s)</i>                                | 0/5  | 0/5               | 0/5                  | 0/5                | 0/5                 |

\* Число погибших животных / число мышей, взятых в опыт.

Признаки интоксикации сразу после введения: <sup>\*\*</sup> незначительная одышка у 2–3 мышей из 5 особей, взятых в опыт; <sup>\*\*\*</sup> одышка, кратковременный парез задних конечностей, нарушение координации движений; <sup>\*\*\*\*</sup> тяжелые судороги у всех мышей, взятых в опыт.

\* Number of dead mice/total number of mice in the experiment.

Signs of intoxication immediately after injection: <sup>\*\*</sup> slight shortness of breath in 2–3 mice out of a total of 5; <sup>\*\*\*</sup> shortness of breath, short-term paresis of the hind limbs, impaired coordination of movements; <sup>\*\*\*\*</sup> severe convulsions in all mice used in the experiment.

и ЛД<sub>50</sub>, которые рассчитаны по фактически полученным результатам и подтверждены на трех сериях (табл. 1). Величину тест-дозы следует выражать в весовых единицах или единицах активности (если дозирование готовой лекарственной формы выражается в единицах активности) действующего вещества на мышь, для многокомпонентных растворов тест-дозу допустимо указывать в мл препарата на животное. Необходимо учитывать применение и пути

введения препарата. Если препарат применяется внутривенно, то использовать иной путь введения для животного при проведении теста недопустимо.

Предложенные рекомендации помогут избежать ошибок в выборе тест-дозы для испытания лекарственных средств на аномальную токсичность и обеспечат получение адекватных и надежных результатов в испытании.

По всем вопросам просим пользоваться формой обратной связи, размещенной на сайте <https://www.regmed.ru/feedback.aspx>

#### ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Степанюк Екатерина Олеговна**, эксперт 1 категории лаборатории фармакологии.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6728-594X>

**Неугодова Наталия Петровна**, начальник лаборатории фармакологии, канд. биол. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8615-952X>

**Ekaterina O. Stepanyuk**, 1<sup>st</sup> professional category expert of the Pharmacology Laboratory.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6728-594X>

**Natalia P. Neugodova**, Head of the Pharmacology Laboratory, Cand. Sci. (Biol.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8615-952X>