

<https://doi.org/10.36107/hfb.2024.i3.s226>

Исследования острой и хронической токсичности инъекционного препарата на основе 3N-6-метил-1H пиримидин-2,4-диона

А.Ю. Петров¹, А.М.Мельников^{1,2}, Е.Д. Югова¹

¹ Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия

² Уральский государственный экономический университет, Екатеринбург, Россия

Корреспонденция:

Мельников Александр Михайлович,

Уральский государственный медицинский университет, 620028, Россия, г.Екатеринбург, ул. Репина, 3

E-mail: alexMM2001@yandex.ru

Конфликт интересов:

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 10.08.2024

Поступила после

рецензирования: 30.11.2024

Принята: 25.12.2024

Copyright: © 2024 Авторы

Соответствие принципам этики:

Соответствие всем этическим требованиям проведенной экспериментальной работы подтверждено заключением комиссии по вопросам биоэтики ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет (Россия, г.Екатеринбург, ул. Репина, 3), протокол №8 от 24.12.2024 г. Условия содержания животных и работы с ними соответствовали принципам Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным, директиве Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей, ГОСТ 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», утвержденному Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии № 1700-ст от 20 ноября 2014 г.

АННОТАЦИЯ

Введение. По статистике, в 2022 году в Российской Федерации было зарегистрировано 3 324,4 тыс. впервые выявленных заболеваний некоторыми инфекционными и паразитарными болезнями. Из них на 1000 человек населения 22,7 впервые выявленных случаев. Ситуация еще больше осложняется появлением новых штаммов со множественной лекарственной устойчивостью и широкой устойчивостью, а также фатальным синергизмом с ВИЧ/СПИД инфекцией.

Цель исследования. Разработка новых соединений с адекватным профилем безопасности и обладающих фунгицидным и противопаразитарным эффектом необходима для эффективного лечения и полного излечения заболевания. Оценка острой и хронической токсичности нового лекарственного препарата является необходимым этапом доклинического исследования безопасности. В связи с этим целью настоящей работы было определение острой и хронической токсичности разработанного химического соединения.

Материалы и методы. Химическая субстанция пиримидин 2,4 диона (1-амино, 6-метил пиримидин 2,4 дион) (ПД-2,4), была синтезирована на базе ФГБУ ВО «Уральский государственный университет» и представляла собой белый кристаллический порошок. В ходе исследования исследуемый образец хранили в темноте при температуре 5–6 °С и растворяли в 0,7 % растворе натрия гидрокарбоната. Оценка острой и хронической токсичности проводилась согласно руководству к проведению доклинических исследований лекарственных средств. Эксперименты были заранее рассмотрены и одобрены комитетом по этике животных УГМУ.

Результаты. При изучении острой токсичности препарата (ПД-2,4) на беспородных белых мышах и крысах обоего пола при пероральном или внутрибрюшинном введении определение средней смертельной дозы не представлялось возможным из-за отсутствия гибели животных в условиях достижения максимально возможных концентраций и максимально допустимых объемов введения.

Выводы. В результате исследования установлено, что при пероральном и внутрибрюшинном введении ПД-2,4 является малотоксичным и, по классификации Сидорова К.К. (1973 г.), может быть отнесен к 4-у классу токсичности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

острая токсичность, хроническая токсичность, фармакологический анализ, мыши



Для цитирования: Петров, А. Ю., Мельников, А.М., & Югова, Е.Д. (2024). Исследования острой и хронической токсичности инъекционного препарата на основе 3N-6-метил-1H пиримидин-2,4-диона. *Health, Food & Biotechnology*, 6(3), 11–20. <https://doi.org/10.36107/hfb.2024.i3.s226>

<https://doi.org/10.36107/hfb.2024.i3.s226>

Studies of Acute and Chronic Toxicity of an Injectable Drug based on 3N-6-Methyl-1H Pyrimidine-2,4-Dione

Alexander Yu. Petrov¹, Alexander M. Melnikov^{1,2}, Elena D. Yugova¹

¹ Ural State Medical University,
Yekaterinburg, Russia

² Ural State University of Economics,
Yekaterinburg, Russia

Correspondence:

Alexander M. Melnikov,
Ural State Medical University,
3 Repina St., Yekaterinburg, 620028, Russia
E-mail: alexMM2001@yandex.ru

Declaration of competing interest:
none declared.

Received: 10.08.2024

Received in revised form: 30.11.2024

Accepted: 25.12.2024

Copyright: © 2024 The Authors

Compliance with the principles of ethics:

Compliance with all ethical requirements of the conducted experimental work was confirmed by the conclusion of the Bioethics Commission of the Ural State Medical University (Yekaterinburg, Russia, 3 Repina St.), Protocol No. 8 dated 12/24/2024. The conditions for keeping and working with animals were consistent with the principles of the Helsinki Declaration on the Humane Treatment of Animals, Directive 2010/63/EC of the European Parliament and of the Council of the European Union of September 22, 2010. on the protection of animals used for scientific purposes, GOST 33044-2014 "Principles of good Laboratory Practice", approved by Order of the Federal Agency for Technical Regulation and Metrology No. 1700-st dated November 20, 2014.

ABSTRACT

Introduction. According to statistics, in 2022, 3,324.4 thousand newly diagnosed diseases with certain infectious and parasitic diseases were registered in the Russian Federation. Of these, 22.7 cases were detected for the first time per 1000 people of the population. The situation is further complicated by the emergence of new multidrug-resistant and broadly resistant strains, as well as fatal synergism with HIV./AIDS infection.

Purpose. The development of new compounds with an adequate safety profile and with fungicidal and antiparasitic effects is necessary for effective treatment and complete cure of the disease. Assessment of the acute and chronic toxicity of a new drug is a necessary step in preclinical safety research. In this regard, the purpose of this work was to determine the acute and chronic toxicity of the developed chemical compound.

Materials and Methods. The chemical substance pyrimidine 2,4 dione (1 amino, 6-methyl pyrimidine 2,4 dione) (PD-2,4) was synthesized on the basis of the Ural State University and was a white crystalline powder. During the study, the test sample was stored in the dark at a temperature of 5–6 °C and dissolved in 0.7 % sodium bicarbonate solution. The assessment of acute and chronic toxicity was carried out according to the guidelines for conducting preclinical studies of medicines. The experiments were reviewed in advance and approved by the UGMU Animal Ethics Committee.

Results. When studying the acute toxicity of the drug (PD-2,4) in outbred white mice and rats of both sexes with oral or intraperitoneal administration, it was not possible to determine the average lethal dose due to the lack of death of animals in conditions of achieving the maximum possible concentrations and the maximum allowable volumes of administration.

Conclusions. As a result of the study, it was found that PD-2,4 is low-toxic with oral and intraperitoneal administration and, according to the classification of K.K. Sidorov (1973), can be classified as a 4th class of toxicity.

KEYWORDS

acute toxicity, chronic toxicity, pharmacological analysis, mice



To cite: Petrov, A. Yu., Melnikov, A. M., & Yugova, E. D. (2024). Acute and chronic toxicity studies of an injectable drug based on 3N-6-methyl-1H pyrimidine-2,4-dione. *Health, Food & Biotechnology*, 6(3), 11–20. <https://doi.org/10.36107/hfb.2024.i3.s226>

ВВЕДЕНИЕ

Аденокарциномы легких являются основной причиной смертности от рака в мире, что представляет собой значительную проблему при постановке диагноза на поздних стадиях и ограничивают возможности хирургического лечения (Мухаммадиева, 2021). Преобладающим подходом такого лечения является мультимодальная терапия, представляющая собой сочетанное (одновременное) или последовательное, поэтапное комбинированное применение нескольких методов лечения при лечении одной и той же злокачественной опухоли у одного и того же пациента (Цибизова и соавт 2021). Однако прогнозы на выживаемость пациентов всё равно остаются неудовлетворительным. Данная ситуация побуждает к созданию новых соединений и лекарственных препаратов на их основе, воздействующих на новые пути реакции организма, измененные при аденокарциноме легких, а также к поиску потенциальных адъювантных стратегий или новых схем лечения данного заболевания (Безбородова и соавт, 2020; Карпенко & Алистратова, 2020).

Важным является поиск лекарственных препаратов и исследование их острой и хронической токсичности. В рамках исследований проводятся тесты, направленные на определение возможных токсических эффектов при различных дозировках и длительном воздействии. Острая токсичность оценивается через изучение реакции организма на единовременное воздействие соединения, в то время как хроническая токсичность предполагает изучение долгосрочных эффектов при повторном воздействии на протяжении определенного периода времени. В связи с этим создание нового ЛП на основе 3N-6-метил-1H пиримидин-2,4-диона и исследование его острой и хронической токсичности представляется обоснованным (Кильметова, 2008). Целью данной научной статьи является проведение исследования острой и хронической токсичности инъекционного ЛП на основе 3N-6-метил-1H-пиримидин-2,4-диона.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

В эксперименте участвовали лабораторные беспородные мыши ($n = 50$, масса 25–32 г) в возрасте 7 недель обоего пола в соотношении 1:1. Животные содержались в виварии в соответствии с ГОСТ 33216–2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными». При заселении в клетку всех животных обследовали на предмет состояния здоровья, чтобы

подтвердить их пригодность для исследования. Аклиматизация мышей к лабораторным условиям проходила в течение 7 дней до начала проведения испытаний. Во время данного периода ежедневно проводили осмотр внешнего состояния животных, патологических отклонений у мышей не было обнаружено.

Мышей размещали в зависимости от пола группами по 5 особей на клетку и от 2 до 3 особей на клетку соответственно в помещении для животных с контролируемой средой и отдельным барьером. Группы животных формировали методом простой рандомизации.

Мышам давали стандартный пищевой рацион и питьевую воду без ограничений. За исключением незначительных изменений, во всех помещениях с животными контролировали и поддерживали 12-часовой цикл света и темноты (150–300 люкс), температуру в диапазоне от 19 до 25 °C и относительную влажность от 30 % до 70 % (Мышкин, 2016).

Острая токсичность внутрибрюшинно. Для определения острой токсичности использовали следующую методику. Самки и самцы мышей в возрасте 40 дней распределялись случайным образом ($n = 5$ самцов и самок в группе) и разделялись на контрольную группу (группа 1) на исследуемые (2–4 группы) группы. В группы 2, 3 и 4, вводили 300, 600, и 900 мг, раствора ПД-2,4 /кг массы мыши в день соответственно. ПД-2 вводили однократно внутрибрюшинно в дозах 300 мг/кг, 600 мг/кг и 900 мг/кг массы тела. Контрольным животным вводили такой же объем раствора натрия гидрокарбоната. После введения за всеми животными наблюдали через 30 минут, 1, 2, 4 и 6 часов, а затем в течение оставшегося экспериментального периода в общей сложности 14 дней. За всеми животными наблюдали не реже одного раза в день. Массу тела измеряли в начале лечения и через 1, 3, 7 и 14 дней после введения. Стратегия внутрибрюшинной токсичности и установка максимальной концентрации применялись на основе метода класса острой токсичности. Методика исследования разработана в соответствии с требованиями Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств¹. В эксперименте с внутрибрюшинным введением оценки острой токсичности препарат вводили в описанных выше концентрациях по 0,5 мл с помощью шприца (Дербисбекова, 2017).

Хроническая токсичность. Хроническую токсичность определяли после установления отсутствия острой токсичности. Хроническую токсичность оценивали в течение 2-х недель.

¹ Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздрава России (2012) Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. Гриф и К

Каждая группа состояла из мышей (5 самцов и 5 самок), и группы были разделены на подгруппы с дозой 300 мг, 600 мг и 900 мг ПД-2,4 /кг (масса мышей) (в день) и контрольную группу. В течение периода наблюдения умер 1 самец и 1 самка в группе, принимавшей 900 мг ПД-2,4 на кг массы в день, а небольшое снижение массы тела и перорального приема наблюдалось в группе, принимавших также 900 мг ПД-2 на кг массы тела мыши в течение дня. На основании этого предварительного эксперимента был сделан вывод, что доза 4-недельного теста на хроническую токсичность с повторной дозой должна быть установлена на уровне менее 900 мг ПД-2,4/кг массы тела мыши в день.

При оценке хронической токсичности в 4-недельном тесте на токсичность с повторным введением 60 здоровым мышам (самцов и самок) были отобраны по среднему весу и распределены на контрольную и 3 группы дозировки: низкую (300 мг ПД-2,4/кг), среднюю (600 мг ПД-2,4 /кг) и высокую (900 мг ПД-2,4/кг). Группы контроля и высокой дозировки состояли из 5 мышей каждого пола, всего по 10 мышей в каждой группе, тогда как группы низкой и средней дозировки состояли из 5 мышей каждого пола, всего по 10 мышей в каждой группе. ПД-2,4 вводили внутривенно в дозе 0,5, 1,0, 1,5 мл/кг массы тела каждый день в течение 4 недель. Контрольным животным вводили такой же объем воды для инъекций. В течение периода введения наблюдали за общим внешним видом животных один раз в день. Массу тела, потребление пищи и воды регистрировали ежедневно. После периода лечения были отобраны 5 самцов и 5 самок мышей, и такой же состав контрольной группы. Наблюдение за ними проводили в течение 2 недель.

Статистическую обработку данных по динамике массы тела мышей и ее прироста выполняли в соответствии с общепринятыми статистическим стандартам.

Ввиду того, что данные не отличались от нормального распределения, а дисперсии были гомогенны, для анализа изменений массы тела и ее прироста использовали параметрические методы. При сравнении нескольких выборок использовали однофакторный дисперсионный анализ или дисперсионный анализ для повторных измерений. В последнем методе результаты измерений были обработаны методом множественных сравнений по Даннелу.

В случае сравнения двух выборок использовали t-критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ [Измайлова и соавт., 2013].

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы

Химическая субстанция пиримидин 2,4 диона (1-амино, 6-метил пиримидин 2,4 дион), раствор натрия гидрокарбоната.

Среднюю массу мыши рассчитывали по алгоритму:

- вычисляли среднее арифметическое результатов наблюдений, например, для средней массы мыши

$$X = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i = \frac{31,1+29+28,3+28,8+31,1+32,1+31,1+28,7+28+30}{10} = 29,81$$

- вычисляли оценку среднего квадратического отклонения результата наблюдения:

$$S_n = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - X_{cp})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{18,49}{(10-1)}} = \sqrt{\frac{18,49}{9}} = 1,43$$

$$\sigma = S^2 = 1,43^2 = 2,05 \text{ (дисперсия)}$$

Определив σ , проверяли наличие в группе наблюдений грубых погрешностей, помня, что при нормальном законе распределения ни одна случайная погрешность $x_i - X$, с вероятностью, практически равной 1, не может выйти за пределы $\pm 3\sigma$. Наблюдения, содержащие грубые погрешности, подлежали бы исключению из группы и требовали повторение вычислений заново X и σ .

Определив $\pm 3\sigma$ равными $3 \cdot 2,05 = \pm 6,16$, располагаем массы от меньшего к большему 28, 28,3, 28,7, 28,8, 29, 30, 31, 31,1, 31,1, 32,1.

Интервал по массе мышей составляет от 28 до 32,1 составляет 4,1, что меньше 6,16 и является удовлетворительным. Таким образом, исследуемые животные укладывались в необходимый интервал. Данным методом была исследована вся выборка мышей (50 особей). Средняя квадратичная погрешность среднего арифметического $S_{\bar{x}}$ рассчитывалась по формуле:

$$S_{\bar{x}} = \frac{S_n}{\sqrt{n}} = \frac{1,43}{\sqrt{10}} = 0,45$$

Случайная составляющая погрешности результата измерения массы мышей при заданной вероятности $P 95\%$:

$$\varepsilon = t_{\varepsilon} \cdot \sigma = 0,45 \cdot 2,31 = 1,03 \text{ г}$$

Относительная погрешность 3,44 %. Систематическая погрешность в данном случае не рассчитывалась.

Тест Шапиро-Уилка не выявил существенного отклонения от нормы, $W(10) = 0,91$, $p = 0,268$. Форма асимме-

трии потенциально симметричный ($p_{\text{val}}=0,845$), форма эксцесса потенциально мезокуртик, нормальные хвосты ($p_{\text{val}}=0,301$), выбросы отсутствуют (Мышкин и соавт., 2014).

Оборудование

Лабораторные беспородные мыши, открытое поле.

Инструменты

Инсулиновые шприцы, флакон пенициллиновый 10 мл с гладким горлом.

Методы

Фармакологические методы исследования, доклинические методы исследования

При изучении острой токсичности препарата (ПД-2,4) на беспородных белых мышах и крысах обоего пола при пероральном или внутривентральном введении определение средней смертельной дозы не представлялось возможным из-за отсутствия гибели животных в условиях достижения максимально возможных концентраций и максимально допустимых объемов введения. В ходе эксперимента у мышей, получивших (ПД-2,4) перорально или внутривентрально, двигательная активность оставалась на том же уровне, что и до приема вещества, нарушение ритма дыхания не наблюдалось. Не было отмечено нарушений ушного и корнеального рефлексов. Рефлексы проверяли прикосновением ваткой к уху и роговице (конъюнктиве) глаза. Никаких значимых клинических особенностей не наблюдалось у животных ни в контрольной, ни в исследуемых группах при дозах 300 мг/кг, 600 мг /кг и 900 мг / кг в течение 14 дней после введения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При введении препарата (ПД-2,4) наблюдали изменения средней массы тела у самцов и самок мышей в группах, получавших лечение, в течение периода испытания представлены на Диаграмме 1.

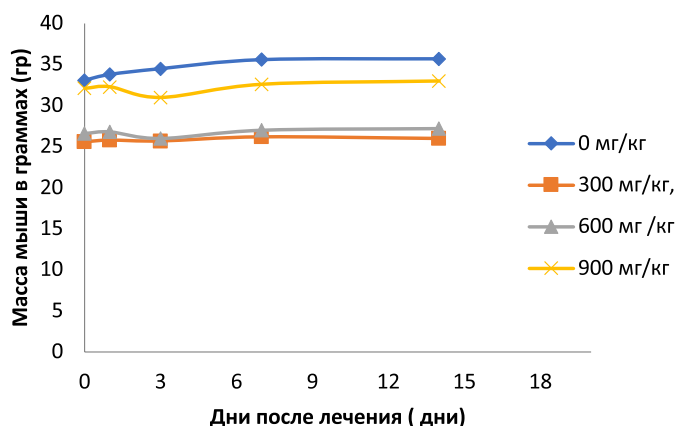
При высоких уровнях дозировки (900 мг/кг) как самцы, так и самки животных показали снижение веса тела на 3,5 %, но постепенно восстановились до нормального веса. Лечение ПД-2,4 (в дозах 300, 600 и 900 мг/кг) не привело к значительному изменению характера потребления пищи и воды в течение периода исследования. Во время вскрытия у мышей не было обнаружено никаких круп-

Диаграмма 1

Изменение средней массы тела

Diagram 1

Change in Average Body Weight



Примечание. Масса тела мыши после однократного внутривентрального введения ПД-2,4 (300 мг/кг, 600 мг/кг, 900 мг/кг) у самцов и самок.

Note: Body weight of mice after a single intraperitoneal injection of PD-2.4 (300 mg/kg, 600 mg/kg, 900 mg/kg) in males and females.

ных поражений. Эти результаты свидетельствуют о том, что острое воздействие ПД-2,4 не вызывает токсических эффектов, а его 50 %-ная летальная доза (LD50), по-видимому, превышает 900 мг/кг для мышей.

После 2-х суток животных помещали в клетки группового содержания, двигательная активность не была нарушена, отдельные особи (мыши) были гиперактивны, выпрыгивали из рук. С точки зрения акустической сигнализации мыши не вокализировали, не горбились, шерсть их не была взъерошенной, боковая линия находилась на обычном месте.

Мышей проверяли на наличие/отсутствие клинических признаков острой боли. Результаты исследования острой токсичности представлены в Таблице 1. Из таблицы видно, что мыши мужского пола контрольной группы пребывали без особенностей в течение всех 14 дней. Попытку защититься, убежать и укунить испытывала одна мышь при концентрации 600 мг/кг и 900 мг/кг вокализировала тоже одна мышь при пальпации больного участка при постановке инъекций 600 мг/кг, данные звуковые сигналы могут быть связаны с неудачной постановкой инъекции. Облизывали, покусывали, царапали поврежденную кожу преимущественно две мыши при разных концентрациях лекарственного препарата. Одна мышь испытывала постоянное беспокойство, неподвижных особей мужского пола не наблюдалось. Отказ двигаться или вставать испытывала одна мышь на 14 сутки по-

Таблица 1
Клинические признаки острой боли мышей во время теста для определения внутрибрюшинной дозы
Table 1
Clinical Signs of Acute Pain in Mice during the Intraperitoneal Dose Determination Test

Пол	Доза (мг/кг)	Количество животных в группе	Клинический признак	Дни													
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
м	0	5	Без особенностей	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
ж	0	5	Без особенностей	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
м	300 /600/ 900мг/кг	5	Без особенностей	5/5/5	5/5/5	5/5/5	5/5/5	5/5/5	5/5/5	5/5/5	4/5/5	5/5/5	5/5/5	5/5/4	4/5/4	4/5/4	5/5/4
			Попытка защититься, убежать, укусить													1/0/1	
			Вокализация. Звуковые сигналы писк, звук, стон при пальпации болезненного участка												1/0/0		
			Повреждение, облизывание, кусание, царапание.								1/0/0			0/0/1			
			Беспокойство: постоянное движение, смена позы,												0/0/1		
			Неподвижность														
			Угнетенность: отказ двигаться или вставать														0/0/1
			Аномальный внешний вид: сгорбленная поза.														
ж	300/600/ 900 мг/кг	5	Без особенностей	5/5/5	5/5/5	5/5/5	5/5/5	5/5/5	5/5/5	5/5/5	5/5/5	5/5/5	4/5/5	5/5/5	5/4/4	5/5/5	5/5/4
			Попытка защититься, убежать, укусить														0/0/1
			Вокализация. Звуковые сигналы писк, звук, стон при пальпации болезненного участка														
			Повреждение, облизывание, кусание, царапание.												0/1/0		
			Беспокойство: постоянное движение, смена позы,														
			Неподвижность										0/0/1				
			Угнетенность: отказ двигаться или вставать														
			Аномальный внешний вид: сгорбленная поза.												0/0/1		

Примечание. Из таблицы видно, что мыши мужского пола контрольной группы пребывали без особенностей в течение всех 14 дней.
Note: The table shows that the male mice in the control group remained normal throughout the 14 days.

Таблица 2
Клинические признаки дистресса мышей во время теста для определения внутрибрюшинной дозы
Table 2
Clinical Signs of Distress in Mice during the Intraperitoneal Dose Determination Test

Пол	Доза (мг/кг)	Количе- ство жи- вотных в группе	Клинический признак	Дни													
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
м	0	5	Без особенностей	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
ж	0	5	Без особенностей	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
м	300 мг/кг	5	Без особенностей	5	5	5	5	5	5	4	4	5	5	5	5	5	5
			Черный цвет кала	—	—	—	—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—
			Слюноотделение (до введения дозы)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
ж	300 мг/кг	5	Без особенностей	5	5	5	5	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5
			Черный цвет кала	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—
			Слюноотделение (до введения дозы)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
м	600 мг/кг	5	Без особенностей	5	5	5	5	5	4	4	5	5	4	5	4	5	3
			Черный цвет кала	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
			Слюноотделение (до введения дозы)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Слюноотделение (после введения дозы)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Нарушение дыхания	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—
			Пилоэрекция	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Сальность	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Отказ от кормления	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			загрязнённость	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—
			Сдutie в месте введения препарата	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Уменьшение объема фекалий	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1
			Уменьшение потребления пищи	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Хроматурия мочи	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ж	600 мг/кг	5	Без особенностей	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4
			Черный цвет кала	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
			Слюноотделение (до введения дозы)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Слюноотделение (после введения дозы)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Нарушение дыхания	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Пилоэрекция	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Сальность	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Отказ от кормления	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Загрязнённость	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
			Сдutie в месте введения препарата	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Уменьшение объема фекалий	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Уменьшение потребления пищи	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Хроматурия мочи	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
м	900 мг/кг	5	Без особенностей	5	5	5	5	5	5	4	4	5	4	4	4	4	3
			Уменьшение потребления пищи	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	—	1	—
			Уменьшение объема фекалий	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
			Стул со слизью	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Мягкий стул	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Вздутие в месте инъекции	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Черноватый стул	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
			Пилоэрекция	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Шатающаяся походка	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Слюноотделение (до введения дозы)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Слюноотделение (после введения дозы)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Хроматурия мочи	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Затруднение дыхания	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	—	—	—	—
			Бледность	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—
			Потеря шерсти	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1

ОкончаниеТаблицы 1

Пол	Доза (мг/кг)	Количе-ство жи-вотных в группе	Клинический признак	Дни													
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
ж	900 мг/кг	5	Без особенностей	5	5	5	5	5	5	4	3	2	1	2	2	2	4
			Уменьшение потребления пищи	–	–	–	–	–	–	1	1	1	–	–	–	–	–
			Уменьшение объема фекалий	–	–	–	–	–	–	–	–	–	2	1	1	–	–
			Стул со слизью	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
			Мягкий стул	–	–	–	–	–	–	–	1	1	1	–	–	–	–
			Вздутие в месте инъекции	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
			Черноватый стул	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	1	1
			Пилоэрекция	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	–	–	–
			Шатающаяся походка	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	–
			Слюноотделение (до введения дозы)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
			Слюноотделение (после введения дозы)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
			Хроматурия мочи	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
			Затруднение дыхания	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
			Бледность	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	–	–
			Потеря шерсти	–	–	–	–	–	–	–	–	1	1	–	–	–	–
			Истощение	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
			Положение лежа	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
			Смерть	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Примечание. При оценке клинических признаков дистресса сравнение происходило с контрольной группой.

Note. When assessing clinical signs of distress, comparisons were made with the control group.

становки инъекции в максимальных дозировке 900 мг/кг. Аномального внешнего вида и сгорбленной позы для особей мужского пола не наблюдалось.

Для мышей женского пола наблюдалась похожая картина. Облизывание, покусывание у одной мыши себя с концентрацией ЛП 600 мг/кг. Неподвижной была одна мышь при концентрации 900 мг/кг на десятые сутки и аномальный вид сгорбленная поза была на 12 сутки также у одной мыши.

К началу вторых суток после введения ПД-2,4 большинство мышей были активны и любопытны. Внешний вид не вызывал отклонений. К концу первой недели и до окончания эксперимента животные были активны, охотно потребляли корм, пили воду. Поведение экспериментальных мышей в этот период наблюдения не отличалось от поведения животных контрольной группы.

В первые двое суток после введения препарата отмечалось незначительное уменьшение потребления корма и воды. Критического снижения массы тела и ее прироста у некоторых опытных животных не происходило.

Клинические признаки дистресса мышей во время теста для определения внутрибрюшинной дозы представлены в Таблице 2. При оценке клинических признаков дистресса сравнение происходило с контрольной группой. При дозировке 300 мг/кг наблюдались единичные

случаи дистресса у мужских особей мышей (обнаружение черного цвета кала и слюноотделением до введения дозы (14 день)), при увеличении дозы лекарственного препарата 600 мг/кг на 12 день наблюдалось нарушение дыхания у одной мыши, объём фекалий и уменьшение потребления пищи наблюдался также у одной особи на 13–14 день. У женских особей мышей наблюдался единичный случай загрязненности на 13 день.

При концентрации лекарственных препарата 900 мг/кг случаев дистресса наблюдалось несколько случаев дистресса у мужских особей. Наблюдались два случая затруднения дыхания, один случай бледности 12 день, потеря шерсти, черноватый стул на 14 день. У женских особей мышей также наблюдали некоторые случаи дистресса при введении ЛП в большой концентрации. Они заключались в 3 случаях стула со слизью, вздутие вместе инъекций 12–14 день и один случай пилоэрекции (Землянко и соавт., 2023).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам экспериментов исследования выявлено, что мыши не испытывали четко выраженных случаев острой боли и дистресс синдрома. Выявленные случаи были единичными. Важно, что к окончанию эксперимента не было выявлено закономерных различий в показателях прироста массы тела у опытных животных

по сравнению с контрольными значениями. В показателях потребления корма и воды в данных группах к окончанию эксперимента также не было выявлено закономерных различий с контрольными группами.

Морфологическая картина внутренних органов, обнаруженная при патологоанатомическом вскрытии всех экспериментальных животных, не отличалась от таковой, наблюдаемой у контрольных животных.

В результате исследования установлено, что при пероральном и внутрибрюшинном введении ПД-2,4 является малотоксичным и может быть отнесён к 4-у классу токсичности.

ВКЛАД АВТОРОВ

Петров А. Ю.: Формулирование идеи; формулирование исследовательских целей и задач, концептуализация, разработка методологии исследования, курирование данных, научное руководство исследованием, написание — подготовка черновика рукописи

Мельников А. М.: работа с программным обеспечением, написание — подготовка черновика рукописи, визуализация, проведение исследования, написание-рецензирование и редактирование рукописи

Югова Е. Д.: предоставление учебных материалов, реагентов, материалов, пациентов, лабораторных образцов, животных, приборов, вычислительных ресурсов или других инструментов анализа, написание — подготовка черновика рукописи

AUTHORS CONTRIBUTION STATEMENT:

Alexander Yu. Petrov: conceptualization; methodology; data curation; project administration; writing — original draft preparation

Alexander M. Melnikov: software; visualisation; investigation; writing — original draft preparation; writing — review & editing

Elena D. Yugova: resources; writing — original draft preparation

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCE

Безбородова, О. А., Панкратов, А. А., Немцова, Е. Р., Венедиктова, Ю. Б., Воронцова, М. С., Енгальчева, Г. Н., & Сюбаев, Р. Д. (2020). Противоопухолевые лекарственные препараты: планирование доклинических исследований по оценке эффективности и безопасности. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*, 10(2), 96–110. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-2-96-110>

Bezborodova, O. A., Pankratov, A. A., Nemtsova, E. R., Venediktova, Yu. B., Vorontsova, M. S., Engalychева, G. N., & Syubaev, R. D. (2020). Anti-tumour drugs: Planning preclinical efficacy and safety studies. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*, 10(2), 96–110. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-2-96-110> (In Russ.)

Дербисбекова, У. Б. (2017). Морфологическое изучение почек животных при изучении острой и подострой токсичности субстанции производного пиримидина. *Актуальные научные исследования в современном мире*, (5–3), 25–29.

Derbisbekova, U. B. (2017). Morphological study of animal kidneys in the study of acute and subacute toxicity of a pyrimidine derivative substance. *Aktual'nye nauchnye issledovaniya v sovremennom mire*, (5–3), 25–29. (In Russ.)

Землянка А. А., Габитова, Н. М., Макалатия, М. К., & Цибизова, А. А. (2023). Оценка острой токсичности пиримидинового

соединения. В *Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств* (с. 559–562).

Zemlyanko, A. A., Gabitova, N. M., Makalatia, M. K., & Tsibizova, A. A. (2023). Evaluation of acute toxicity of pyrimidine compound. In *Ways and forms of improving pharmaceutical education. Actual issues of development and research of new drugs* (p. 559–562). (In Russ.)

Измайлова, А. Х., Шакирова, Д. Х., & Измайлов, А. Г. (2013). Препараты пиримидинового ряда в экспериментальных и клинических исследованиях. *Вестник современной клинической медицины*, 6, Приложение 2.

Izmailova, A. Kh., Shakirova, D. Kh., & Izmailov, A. G. (2013). Pyrimidine drugs in experimental and clinical studies. *Bulletin of Modern Clinical Medicine*, 6, Supplement 2. (In Russ.)

Карпенко Л. Ю. & Алистратова Ф. И. (2022). Некоторые морфофункциональные особенности у мышей, при моделировании токсичности. *Академическая публицистика*, (2–1), 198–202.

Karpenko, L. Yu., & Alistratova, F. I. (2022). Some morphofunctional features in mice, when modeling toxicity. *Akademicheskaya publicistika*, (2–1), 198–202. (In Russ.)

- Кильметова, И. Р. (2008). *Фармакология и применение новых производных пиримидина* [Докторская диссертация, Кубанский государственный аграрный университет]. Краснодар.
- Kilmetova, I. R. (2008). *Pharmacology and application of new pyrimidine derivatives* [Doctoral dissertation, Kuban State Agrarian University]. Krasnodar. (In Russ.)
- Мухаммадиева, А. С. (2021). Исследования острой и хронической токсичности антигельминтного соединения «K-55». *Ветеринарная патология*, (1(75)), 18–24. <https://doi.org/10.25690/VETPAT.2021.76.54.010>
- Mukhammadieva, A. S. (2021). Research of acute and chronic toxicity of antihelminth compound «K-55». *Russian Journal of Veterinary Pathology*, (1):18–24. <https://doi.org/10.25690/VETPAT.2021.76.54.010> (In Russ.)
- Мышкин, В. А., Еникеев, Д. А., & Игбаев, Р. К. (2014). Антитоксические свойства производных пиримидина. *Фундаментальные исследования*, (10–5), 945–950.
- Myshkin, V. A., Enikeev, D. A., & Igbaev, R. K. (2014). Antitoxic properties of pyrimidine derivatives. *Fundamental Research*, (10–5), 945–950. (In Russ.)
- Мышкин, В. А., Еникеев, Д. А., Срубиллин, Д. В., & Гимадиева, А. Р. (2016). Экспериментальная оценка производных пиримидина на моделях токсического поражения печени: обзор. Научное обозрение. *Медицинские науки*, (3), 88–98.
- Myshkin, V. A., Enikeev, D. A., Srubilin, D. V., & Gimadieva, A. R. (2016). Experimental evaluation of pyrimidine derivatives in models of toxic liver injury: a review. *Scientific review. Medical sciences*, (3), 88–98. (In Russ.)
- Цибизова, А. А., Ясенявская, А. Л., Озеров, А. А., Самотруева, М. А., & Тюренков, И. Н. (2021). Оценка острой токсичности нового пиримидинового производного. *Астраханский медицинский журнал*, 16(1), 82–87. <https://doi.org/10.17021/2021.16.1.82.87>
- Tsibizova, A. A., Yasenyavskaya, A. L., Ozerov, A. A., Samotrueva, M. A., & Tyurenkov, I. N. (2021). Acute toxicity assessment a new pyrimidine derivative. *Astrakhan medical journal*. 16(1):82–87. <https://doi.org/10.17021/2021.16.1.82.87> (In Russ.)