

*Н.А. Забокрицкий*

## ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ ТОКСИЧНОСТИ НОВЫХ БИОСОЕДИНЕНИЙ

ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН,  
г. Екатеринбург, Российская Федерация

**Резюме.** В работе представлены результаты экспериментальных исследований по фармакологической оценке острой токсичности применения разработанных новых биосоединений. **Цель исследования:** провести экспериментальную фармакологическую оценку острой токсичности на лабораторных животных разработанных новых биосоединений при интрагастральном введении. **Материалы и методы.** Экспериментальную фармакологическую оценку острой токсичности разработанных новых биосоединений проводили на лабораторных животных (белых мышах) при интрагастральном введении. В работе использовали экспериментальные образцы новых перспективных пробиотических препаратов «Феникс-1» и «Феникс-2» на основе сапрофитных микроорганизмов вида *Bacillus*. Наблюдение за животными осуществляли в течение двух недель. В ходе наблюдений фиксировали изменения внешнего вида, состояния кожи и шерсти, глаз и слизистых, дыхания, поведения, двигательной активности, дефекации и мочеиспускания; особое внимание уделяли оценке возможных явлений тремора, конвульсий и судорог, слюноотделения, диареи, летаргии, сна и комы. Еженедельно проводили замеры массы тела животных. Через две недели проводили выведение животных их эксперимента натошак под наркозом. **Результаты исследования** показали, что экспериментальные образцы «Феникс-1» и «Феникс-2» при внутрижелудочном однократном введении мышам не обладают острой токсичностью. При интрагастральном введении летальность животных отсутствует, влияние препаратов на состояние и поведение животных, массу тела, массу печени и желудка, макроскопическое состояние органов при вскрытии отсутствует, гематологические показатели периферической крови не отличаются от контроля и не выходят за пределы физиологических норм; микроскопическое состояние печени, желудка и тонкого кишечника у большинства животных соответствует норме.

**Ключевые слова:** острая токсичность, интрагастральное введение, биосоединения, пробиотики, фармакологическая оценка, безопасность в применении

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Забокрицкий Николай Александрович

pharmusma@rambler.ru

Дата поступления: 01.09.2024

Образец цитирования: Забокрицкий Н.А. Исследования по фармакологической оценке токсичности новых биосоединений. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2024, Том 21, № 3, с. 335–345, DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-3-335-345

### Введение

На сегодняшний день весьма актуальной задачей современного здравоохранения является разработка, конструирование и создание новых перспективных лекарственных кандидатов, изучение их специфических фармакокинетических механизмов и фармакодинамических эффектов на различных биологических экспериментальных моделях, экстраполяции фармакологических показателей на человека, доклинического изучения безопасности созданных экспериментальных образцов [1, 2].

В последнее десятилетие существенно возрос интерес как ученых, так и практических врачей к пробиотическим и метабиотическим препаратам [3, 4]. Значительно расширилось их применение, успешно разрабатываются оригинальные композиции и лекарственные формы пробиотиков, расши-

ряется их производство, исследуются новые, перспективные области использования этих средств [5, 6]. Целесообразно отметить, что все более широко в лечебную практику внедряются новые пробиотики, метабиотики на основе микроорганизмов сенной палочки. Последние исследования подтверждают, что с биотехнологической точки зрения сенная палочка является весьма перспективным объектом исследования в области конструирования новых медицинских иммунобиологических препаратов [7, 8]. В связи с этим, представлялось целесообразным провести экспериментальные исследования по фармакологической оценке острой токсичности применения разработанных новых биосоединений.

**Цель:** провести экспериментальную фармакологическую оценку острой токсичности на лабораторных животных разработанных новых биосоединений при интрагастральном введении.

### **Материалы и методы**

#### **Лабораторные животные**

Оценка острой токсичности препаратов «Феникс-1», «Феникс-2» проведена на беспородных белых мышах в трех концентрациях  $2 \times 10^6$  кл/мл,  $5 \times 10^6$  кл/мл,  $10 \times 10^6$  кл/мл. В каждой группе было по 5 животных.

Введение препаратов выполняли внутрижелудочно, однократно в утренние часы натощак. Перед манипуляцией проводили оценку массы тела животных. Внутрижелудочное введение – в объеме 0,2 мл/20 г массы тела мыши согласно ГОСТ 32296-2013 «Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека. Основные требования к проведению испытаний по оценке токсичности при внутрижелудочном поступлении методом фиксированной дозы». При внутрижелудочном введении препараты вносили через зонд. Контрольная группа мышей получала физиологический раствор хлорида натрия 0,9% в аналогичном объеме.

Наблюдение за животными проводили 14 дней, в процессе чего фиксировали изменения внешнего вида, состояния кожи и шерсти, глаз и слизистых, дыхания, поведения, двигательной активности, дефекации и мочеиспускания; особое внимание уделяли оценке возможных явлений тремора, конвульсий и судорог, слюноотделения, диареи, летаргии, сна и комы. Ежедневно проводили измерение массы тела животных. Через 14 дней проводили выведение животных из эксперимента натощак под наркозом (2% Ксилазин, Золетил-100, изофлуран).

Образцы крови получали у животных под наркозом из бедренной вены в пробирку с КЗЭДТА для проведения общеклинического анализа и измерения скорости оседания эритроцитов (СОЭ), проведения биохимических исследований (общий белок, общий холестерин, глюкоза, АСТ, АЛТ, щелочная фосфатаза – ЩФ). Затем всех подопытных животных подвергали общей некропии. Оценивали общее макроскопическое состояние органов, проводили определение относительной массы печени, желудка.

#### **Исследование гематологических показателей**

Анализ периферической крови проводили на автоматизированном гематологическом анализаторе BC-2800 Vet (Mindray, Китай), предназначенном для исследования крови животных. Взятие крови осуществляли в вокутейнеры, содержащие КЗЭДТА в качестве антикоагулянта. Проводился автоматический подсчет следующих показателей крови:

- WBC – абсолютное количество лейкоцитов ( $10^3$ /мкл);
- Lym# – абсолютное количество лимфоцитов ( $10^3$ /мкл);
- Mon# – абсолютное количество моноцитов ( $10^3$ /мкл);
- Grn# – абсолютное количество гранулоцитов ( $10^3$ /мкл);
- Lym% – относительное содержание лимфоцитов (%);
- Mon% – относительное содержание моноцитов (%);
- Grn% – относительное содержание гранулоцитов (%);
- RBC – абсолютное количество эритроцитов ( $10^6$ /мкл);
- Hb – содержание гемоглобина (г/дл);
- Hct – гематокрит (%);
- MCV – средний объем эритроцитов (фл);
- MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроците (пг);

МСНС – средняя концентрация гемоглобина в эритроците (г/дл);

RDW – распределение эритроцитов по размеру (%);

Plt# – содержание тромбоцитов ( $10^3/\text{мкл}$ );

Pct – тромбокрит (%);

MPV – средний объем тромбоцитов (фл);

PDW – распределение тромбоцитов по размеру (%).

Определение СОЭ проводили ручным способом с помощью капилляра Панченкова с оценкой результатов через 1 час.

### **Биохимическое исследование**

Для определения в плазме крови активности АСТ, АЛТ и щелочной фосфатазы, содержания глюкозы, общего белка и общего холестерина (ОХС), использовали наборы реактивов «Витал Диагностикс» (Санкт-Петербург). Рассчитывали соотношение АСТ/АЛТ (коэффициент де Ритиса). Оптическую плотность определяли на спектрофотометре СФ-56 ЛОМО-Спектр (Санкт-Петербург).

### **Статистический анализ**

Статистический анализ проводили с использованием пакета статистических программ STATISTICA v.6.0 (StatSoft, Inc. 2001, США). Данные представлены в виде среднего арифметического ( $M$ ) и стандартной ошибки среднего ( $m$ ). Для проверки гипотезы об однородности двух независимых выборок использовали непараметрический критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney U test), для нескольких независимых выборок использовали непараметрический критерий Краскела-Уоллиса (Kruskal Wallis H test), для связанных выборок – критерий Вилкоксона (Wilcoxon signed-rank test). При проверке статистических гипотез использовали 5% уровень значимости.

### **Результаты**

Проведенные исследования свидетельствуют об отсутствии летальности у мышей после однократного внутрижелудочного введения препаратов «Феникс-1» и «Феникс-2». Явлений тремора, конвульсий, судорог, слюноотделения, летаргии, комы, иных признаков изменения поведения отмечено не было. На протяжении 14 дней наблюдения активность всех животных соответствовала фазе суток, поведение ориентировано, глаза и слизистые чистые, бледно-розовые, дыхание ровное без особенностей, шерсть блестящая, кожа упругая. Мочеиспускание и дефекация в пределах норм. Потребление корма и воды соответствовало физиологическим нормам.

После однократного внутрижелудочного введения физраствора и препарата «Феникс-2» в дозировке  $2 \times 10^6$  кл/мл и  $5 \times 10^6$  кл/мл отмечено значимое снижение массы тела мышей при сравнении показателей в интактном состоянии и после эвтаназии, то есть через 2 недели (критерий Вилкоксона;  $p < 0,05$ ) (Табл. 1). Поскольку наблюдаемые изменения отмечаются и в контрольной группе, по видимому, они не связаны с действием препарата.

Выполненная некропсия мышей в группах с внутрижелудочным введением препаратов «Феникс-1» и «Феникс-2» свидетельствует, что видимые деформации и увеличения в размерах частей тела отсутствовали, признаки истощения животных не наблюдались. Шерсть была гладкой, волосяной покров сохранен, повреждения кожного покрова отсутствовали. Слизистые оболочки были розовыми, отделяемое отсутствовало, глаза были ясными. Аномалии и патологические образования органов грудной клетки и брюшной полости отсутствовали. Печень – темно-красно-коричневого цвета, плотно-эластичной консистенции, с блестящей поверхностью, степень кровенаполнения соответствовала состоянию после взятия больших объемов крови. Повреждения пищевода отсутствовали. Серозная оболочка желудка и кишечника гладкая, блестящая, без видимых изменений. Язвы, гиперемии слизистой желудка не выявлялись, объемные образования, диффузные утолщения стенок отсутствовали. Остальные органы брюшной полости – без особенностей.

### **Гематологический анализ периферической крови**

Однократное внутрижелудочное введение препаратов «Феникс-1» и «Феникс-2» не оказывало влияния на гематологические показатели периферической крови (Табл. 2).

Биохимический анализ периферической крови

При внутрижелудочном введении мышам препарата «Феникс-1» обнаруживалось достоверное снижение активности АСТ и АЛТ относительно показателей контроля только при воздействии дозы  $10 \times 10^6$  кл/мл, что, однако, не имеет клинической значимости, поскольку в абсолютных значениях по-

вышение было незначительным и не выходило за пределы физиологических норм для мышей (Табл. 3). Отклонение соотношения АСТ/АЛТ от нормы в группах, получавших «Феникс-1», не наблюдалось. При действии всех доз препарата «Феникс-1» отмечалось увеличение активности щелочной фосфатазы (примерно в 1,5 раза) относительно контрольных значений. Увеличение активности щелочной фосфатазы может быть связано с явлением холестаза и выделением печеночного изофермента щелочной фосфатазы в кровь, а также с активацией изофермента щелочной фосфатазы в остеобластах в связи с более активным ростом мышей.

Таблица 1

Показатели массы тела, печени и желудка у мышей экспериментальных групп при однократном  
внутрижелудочном введении препаратов «Феникс-1» и «Феникс-2» (n=5)

Table 1

Indicators of body weight, liver and stomach in mice of experimental groups with a single intragastric  
administration of the drugs «Phoenix-1» and «Phoenix-2» (n=5)

Показатель Indicator	Контроль Control	«Феникс-1», 2×10 <sup>6</sup> кл/мл «Phoenix-1», 2×10 <sup>6</sup> cells/ ml	«Феникс-1», 5×10 <sup>6</sup> кл/мл «Phoenix-1», 5×10 <sup>6</sup> cells/ ml	«Феникс-1», 10×10 <sup>6</sup> кл/мл «Phoenix-1», 10×10 <sup>6</sup> cells/ ml	«Феникс-2», 2×10 <sup>6</sup> кл/мл «Phoenix-2», 2×10 <sup>6</sup> cells/ ml	«Феникс-2», 5×10 <sup>6</sup> кл/мл «Phoenix-2», 5×10 <sup>6</sup> cells/ ml	«Феникс-2», 10×10 <sup>6</sup> кл/мл «Phoenix-2», 10×10 <sup>6</sup> cells/ ml
Масса исходная, г Initial weight, g	22,94±1,27	22,50±1,20	23,02±1,25	23,66±1,25	25,06±1,64	22,76±1,86	25,28±1,06
Масса через 1 неделю, г Weight after 1 week, g	23,36±1,12	22,76±1,33	23,70±1,39	23,52±1,62	26,00±1,62	23,52±2,02	26,82±1,28
Масса при забое, г Weight at slaughter, g	21,12±1,26*	22,63±1,51	22,98±1,58	22,12±2,03	23,36±1,50*	21,33±2,20*	24,44±1,02
Привес за 2 недели, % Gain in 2 weeks, %	92,04±1,50	100,25±1,62	99,58±2,47	93,46±6,54	93,29±1,27	93,13±1,88	96,75±1,74
Масса печени, г Liver weight, g	1,04±0,05	1,08±0,07	1,07±0,08	1,04±0,11	1,13±0,10	1,02±0,12	1,12±0,04
Масса желудка, г Stomach weight, g	0,17±0,01	0,16±0,01	0,16±0,01	0,17±0,01	0,17±0,01	0,17±0,02	0,18±0,01
Относительная масса печени, % Relative liver weight, %	4,95±0,17	4,78±0,11	4,66±0,15	4,69±0,08	4,82±0,29	4,75±0,09	4,59±0,12
Относительная масса желудка, % Relative weight of the stomach, %	0,80±0,01	0,73±0,07	0,71±0,03	0,77±0,03	0,75±0,02	0,78±0,04	0,73±0,03

Примечание: \* – различия между массой до исследования и после выведения из эксперимента достоверны (критерий Вилкоксона; p<0,05)

Note: \* – the differences between the weight before the study and at slaughter are significant (Wilcoxon test; p<0,05)

Нами не было обнаружено достоверных изменений содержания глюкозы, общего белка и общего холестерина при внутрижелудочном введении препарата «Феникс-1» (Табл. 3).

Внутрижелудочное введение препарата «Феникс-2» мышам не сопровождалось значимым изменением исследованных показателей за исключением активности щелочной фосфатазы, которая увеличилась при применении дозы 10x10<sup>6</sup> кл/мл относительно контрольных значений. При этом активность щелочной фосфатазы в группе с максимальной дозировкой не имела значимых отличий от показателей в группах мышей, получавших меньшие дозы препарата (Табл. 3).

#### Гистологическое исследование

Гистологические результаты исследования печени, желудка и тонкого кишечника большинства мышей после однократного внутрижелудочного введения препаратов «Феникс-1» и «Феникс-2» во всех исследуемых дозировках соответствовала физиологической норме (Рис. 1-3). В печени сохранено дольчатое строе-

ние. Признаки дистрофических изменений в гепатоцитах не обнаруживались. В значительном количестве были обнаружены двуядерные гепатоциты. В желудке и тонком кишечнике сохранялась нормальная архитектоника ткани. Признаков изъязвлений, повреждения слизистой, подслизистой не было обнаружено.

Таблица 2

Гематологические показатели периферической крови мышей экспериментальных групп при однократном внутриведении препаратов «Феникс-1» и «Феникс-2» (n=5)

Table 2

Hematological parameters of peripheral blood of mice of experimental groups with a single intragastric administration of the drugs «Phoenix-1» and «Phoenix-2» (n=5)

Показатель Indicator	Контроль Control	«Феникс-1», 2×10 <sup>6</sup> кл/мл «Phoenix-1», 2×10 <sup>6</sup> cells/ ml	«Феникс-1», 5×10 <sup>6</sup> кл/мл «Phoenix-1», 5×10 <sup>6</sup> cells/ ml	«Феникс-1», 10×10 <sup>6</sup> кл/мл «Phoenix-1», 10×10 <sup>6</sup> cells/ ml	«Феникс-2», 2×10 <sup>6</sup> кл/мл «Phoenix-2», 2×10 <sup>6</sup> cells/ ml	«Феникс-2», 5×10 <sup>6</sup> кл/мл «Phoenix-2», 5×10 <sup>6</sup> cells/ ml	«Феникс-2», 10×10 <sup>6</sup> кл/мл «Phoenix-2», 10×10 <sup>6</sup> cells/ ml
WBC, 10 <sup>3</sup> /μL	7,36±0,81	5,64±1,09	6,94±1,29	5,82±0,74	9,82±2,68	9,36±2,64	3,96±0,73
Lym#, 10 <sup>3</sup> /μL	5,16±0,52	3,84±0,88	4,90±1,07	3,62±0,32	6,38±1,90	6,34±2,00	2,44±0,58
Mon#, 10 <sup>3</sup> /μL	0,26±0,04	0,22±0,05	0,26±0,06	0,22±0,04	0,44±0,13	0,30±0,08	0,12±0,02
Grn#, 10 <sup>3</sup> /μL	1,94±0,31	1,58±0,34	1,78±0,22	1,98±0,45	3,00±0,71	2,72±0,55	1,40±0,25
Lym, %	70,54±2,45	66,92±4,64	68,24±3,71	63,46±3,59	64,96±3,52	65,62±1,90	60,14±4,29
Mon, %	3,78±0,29	4,08±0,24	4,04±0,38	3,94±0,56	4,36±0,48	3,62±0,18	3,74±0,32
Grn, %	25,68±2,24	29,00±4,55	27,72±3,41	32,60±3,29	30,68±3,14	30,76±1,86	36,12±3,98
RBC, 10 <sup>6</sup> /μL	9,49±0,32	9,17±0,13	9,30±0,10	9,58±0,15	9,68±0,13	9,64±0,17	9,82±0,13
Hb, g/L	148,00±5,01	148,80±3,41	146,00±3,16	154,60±3,85	153,80±3,77	152,40±1,29	154,80±3,02
Hct, %	45,12±1,12	45,38±0,87	43,70±0,78	46,40±0,98	46,22±0,95	45,72±0,50	46,86±0,71
MCV, fL	47,62±0,74	49,56±0,96	47,06±0,63	48,48±0,33	47,80±0,67	47,54±0,70	47,78±0,42
MCH, pg	15,54±0,16	16,16±0,33	15,64±0,27	16,10±0,18	15,84±0,29	15,76±0,22	15,70±0,13
MCHC, g/L	327,40±3,31	327,40±1,75	333,80±1,56	332,60±3,39	332,00±1,55	333,00±1,92	329,60±2,42
RDW, %	13,50±0,45	13,32±0,74	13,48±0,63	12,68±0,58	13,24±0,37	12,70±0,51	13,04±0,31
PLT, 10 <sup>3</sup> /μL	1814,20±133,53	1560,40±62,32	1508,80±65,18	1799,60±175,90	1655,80±138,98	1563,80±209,70	1611,80±82,43
MPV, fL	4,68±0,09	4,88±0,12	4,74±0,12	4,98±0,07	4,72±0,11	4,74±0,10	4,62±0,08
PDW, %	15,38±0,06	15,58±0,10	15,48±0,09	15,64±0,06	15,38±0,04	15,52±0,07	15,36±0,07
PCT, %	0,85±0,06	0,76±0,04	0,72±0,05	0,90±0,10	0,78±0,06	0,73±0,09	0,74±0,04
ESR, mm/h	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00

Примечание: \* – введение препарата значительно влияет (Критерий Краскала-Уоллиса; p<0,05)

Note: \* – administration of the drug has a significant effect (Kruskal-Wallis test; p<0,05)

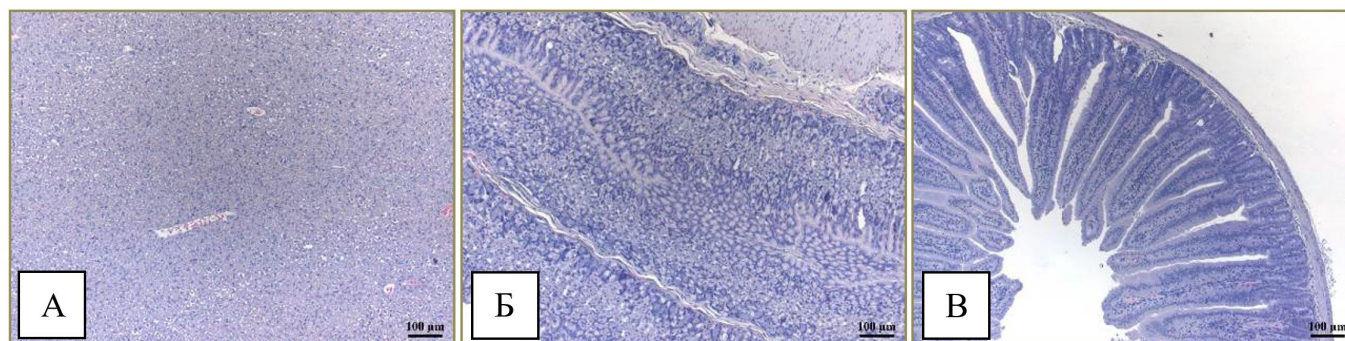


Рисунок 1. Печень (А), желудок (Б) и кишечник (В) мышей контрольной группы при внутриведении физиологического раствора

Примечание. Окрашивание гематоксилином и эозином. Ядра клеток – фиолетовые, цитоплазма, волокна – розовые. Увеличение  $\times 10$ . Контрольный отрезок – 100 мкм

Figure 1. Liver (A), stomach (Б) and intestines (В) of control mice after intragastric injection of saline

Note. Hematoxylin and eosin staining. Cell nuclei are purple, cytoplasm, fibers are pink. Magnification  $\times 10$ . Control segment – 100  $\mu\text{m}$

Таблица 3

Биохимические показатели в плазме крови мышей после внутриведения различных доз препаратов «Феникс-1» и «Феникс-2»

Table 3

Biochemical parameters in the blood plasma of mice after intragastric administration of various doses of the drugs «Phoenix-1» and «Phoenix-2»

Показатель Indicator	Контроль Control	«Феникс-1», $2 \times 10^6$ кл/мл «Phoenix-1», $2 \times 10^6$ cells/ ml	«Феникс-1», $5 \times 10^6$ кл/мл «Phoenix-1», $5 \times 10^6$ cells/ ml	«Феникс-1», $10 \times 10^6$ кл/мл «Phoenix-1», $10 \times 10^6$ cells/ ml	«Феникс-2», $2 \times 10^6$ кл/мл «Phoenix-2», $2 \times 10^6$ cells/ ml	«Феникс-2», $5 \times 10^6$ кл/мл «Phoenix-2», $5 \times 10^6$ cells/ ml	«Феникс-2», $10 \times 10^6$ кл/мл «Phoenix-2», $10 \times 10^6$ cells/ ml
АСТ, мкмоль/мин·л AST, $\mu\text{mol} / \text{min}\cdot\text{L}$	22,36 $\pm$ 1,59	19,81 $\pm$ 1,44	18,69 $\pm$ 1,38	17,05 $\pm$ 0,59 *	19,70 $\pm$ 2,97	19,38 $\pm$ 2,10	21,50 $\pm$ 1,07
АЛТ, мкмоль/мин·л ALT, $\mu\text{mol} / \text{min}\cdot\text{L}$	21,58 $\pm$ 1,71	18,96 $\pm$ 1,20	17,74 $\pm$ 1,43	16,75 $\pm$ 0,50 *	20,47 $\pm$ 1,76	16,52 $\pm$ 1,89	18,90 $\pm$ 1,75
АСТ/АЛТ AST/ALT	1,06 $\pm$ 0,10	1,05 $\pm$ 0,06	1,07 $\pm$ 0,08	1,02 $\pm$ 0,04	0,96 $\pm$ 0,11	1,21 $\pm$ 0,16	1,16 $\pm$ 0,06
Щелочная фосфатаза, мкмоль/ мин·л Alkaline phosphatase, $\mu\text{mol} / \text{min}\cdot\text{L}$	7,60 $\pm$ 0,68	11,79 $\pm$ 1,34 *	10,83 $\pm$ 0,95 *	13,14 $\pm$ 1,62 *	8,01 $\pm$ 0,90	8,03 $\pm$ 1,46	10,54 $\pm$ 0,59 *
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/L	4,09 $\pm$ 0,46	3,42 $\pm$ 0,15	3,30 $\pm$ 0,14	3,42 $\pm$ 0,24	3,23 $\pm$ 0,08	3,96 $\pm$ 0,31	4,13 $\pm$ 0,43
Общий белок, г/л Total protein, g/L	58,2 $\pm$ 2,5	62,3 $\pm$ 2,8	61,4 $\pm$ 2,4	58,8 $\pm$ 1,7	59,3 $\pm$ 2,0	58,4 $\pm$ 2,3	55,6 $\pm$ 2,2
Общий холестерин, ммоль/л Total cholesterol, mmol/L	1,91 $\pm$ 0,10	2,24 $\pm$ 0,18	2,24 $\pm$ 0,14	2,04 $\pm$ 0,11	2,09 $\pm$ 0,11	1,85 $\pm$ 0,10	1,71 $\pm$ 0,08

Примечание: \* – различия с контролем достоверны (Критерий Манна-Уитни;  $p < 0,05$ )

Note: \* – differences with control are significant (Mann-Whitney U-test;  $p < 0,05$ )

## Обсуждение

Однократное интрагастральное введение препаратов «Феникс-1» и «Феникс-2» беспородным белым мышам не приводило к летальному исходу животных. Явлений тремора, конвульсий, судорог, слюноотделения, летаргии, комы, иных признаков изменения поведения не наблюдалось. На протяжении всего времени исследования все животные были активны, поведение ориентировано, глаза и слизистые чистые, бледно-розовые, дыхание ровное без особенностей, шерсть блестящая, кожа упругая. Мочеиспускание и дефекация соответствовали норме. Потребление корма и воды во всех группах было в пределах физиологических норм.

В печени сохранено дольчатое строение. Признаки дистрофических изменений в гепатоцитах не обнаружены. В значительном количестве наблюдались двуядерные гепатоциты. В желудке и тонком кишечнике сохранялась нормальная архитектура ткани. Признаков изъязвлений, повреждения слизистой, подслизистой не выявлено. Таким образом, в исследуемых органах признаки токсического и механического повреждения, местного раздражающего действия не найдены.

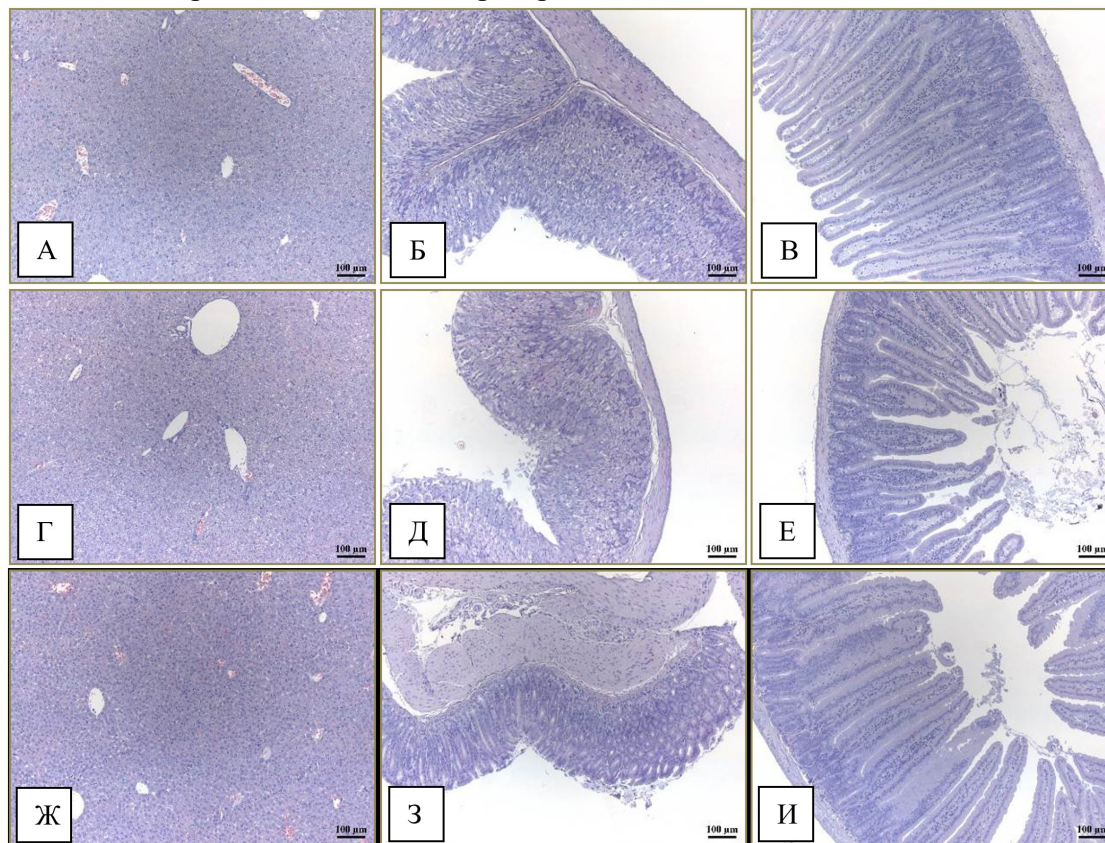


Рисунок 2. Печень (А, Г, Ж), желудок (Б, Д, З) и кишечник (В, Е, И) мышей при внутрижелудочном введении препарата «Феникс-1» в дозировке  $2 \times 10^6$  кл/мл (А-В),  $5 \times 10^6$  кл/мл (Г-Е),  $10 \times 10^6$  кл/мл (Ж-И)

Примечание. Окрашивание гематоксилином и эозином. Ядра клеток – фиолетовые, цитоплазма, волокна – розовые. Увеличение  $\times 10$ . Контрольный отрезок – 100 мкм

Figure 2. Liver (A, G, Zh), stomach (B, D, Z) and intestines (B, E, I) of mice with intragastric administration of the drug «Phoenix-1» at a dosage of  $2 \times 10^6$  cells/ml (A-B),  $5 \times 10^6$  cells/ml (Г-Е),  $10 \times 10^6$  cells/ml (Ж-И)

Note. Hematoxylin and eosin staining. Cell nuclei are purple, cytoplasm, fibers are pink. Magnification  $\times 10$ . Control segment – 100  $\mu\text{m}$

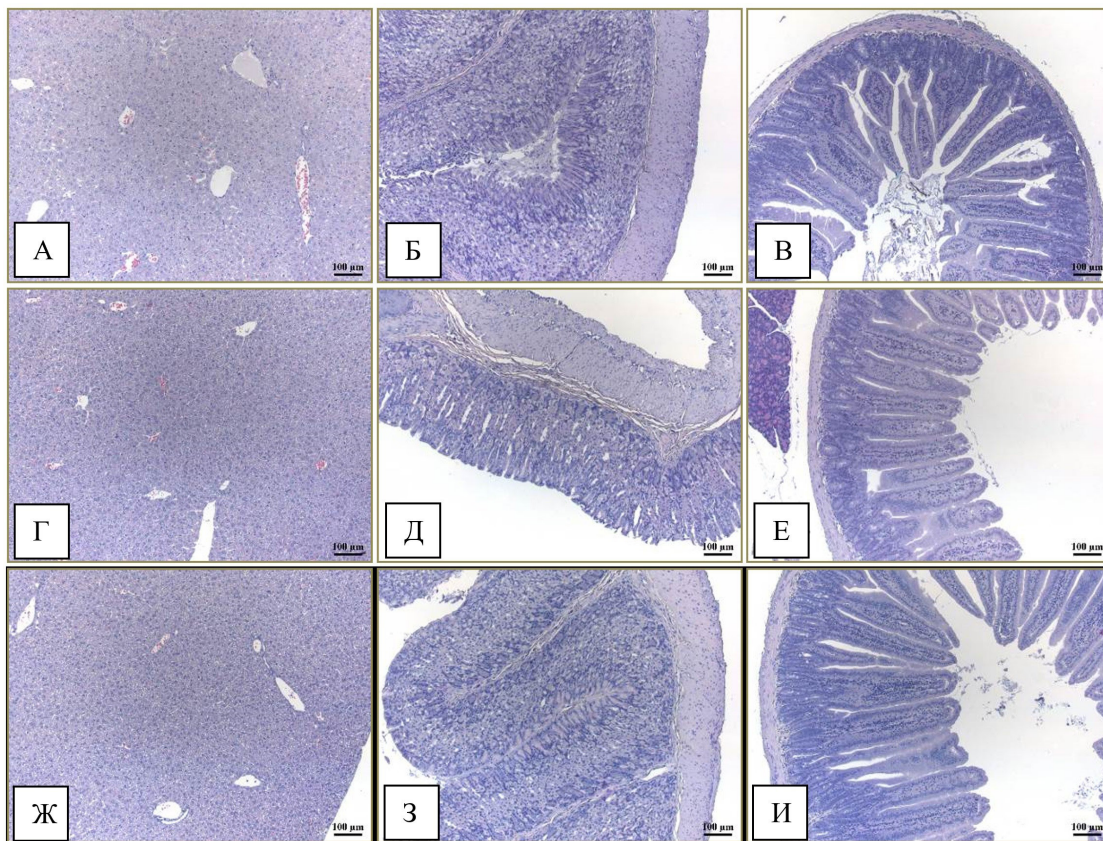


Рисунок 3. Печень (А, Г, Ж), желудок (Б, Д, З) и кишечник (В, Е, И) мышей при внутрижелудочном введении препарата «Феникс-2» в дозировке  $2 \times 10^6$  кл/мл (А-В),  $5 \times 10^6$  кл/мл (Г-Е),  $10 \times 10^6$  кл/мл (Ж-И)

Примечание. Окрашивание гематоксилином и эозином. Ядра клеток – фиолетовые, цитоплазма, волокна – розовые. Увеличение  $\times 10$ . Контрольный отрезок – 100 мкм

Figure 3. Liver (A, G, Z), stomach (Б, Д, З) and intestines (B, E, И) of mice with intragastric administration of the drug «Phoenix-2» at a dosage of  $2 \times 10^6$  cells/ml (A-B),  $5 \times 10^6$  cells/ml (Г-Е),  $10 \times 10^6$  cells/ml (Ж-И)

Note. Hematoxylin and eosin staining. Cell nuclei are purple, cytoplasm, fibers are pink. Magnification  $\times 10$ . Control segment – 100  $\mu\text{m}$

### Заключение

Таким образом, изучаемые биосоединения «Феникс-1» и «Феникс-2» при внутрижелудочном однократном введении мышам не обладают выраженной острой токсичностью. При внутрижелудочном введении летальность животных отсутствует, влияние препаратов на состояние и поведение животных, массу тела, массу печени и желудка, макроскопическое состояние органов при вскрытии отсутствует, гематологические показатели периферической крови не отличаются от контроля и не выходят за пределы физиологических норм; микроскопическое состояние печени, желудка и тонкого кишечника у большинства животных соответствует норме; биохимические признаки острой токсичности отсутствуют, обнаружено повышение активности щелочной фосфатазы для всех мышей, получавших «Феникс-1», и у мышей с максимальной дозировкой «Феникс-2», что может свидетельствовать о холестазах.

### Благодарности

Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (№ гос. регистрации 122020900136-4).

### ЛИТЕРАТУРА

1. Ардатская М.Д., Столярова Л.Г., Архипова Е.В., Филимонова О.Ю. Метабиотики как естественное развитие пробиотической концепции. Рецепт. 2019; 2(22):291-298.
2. Забокрицкий Н.А. Оценка иммуотропного действия пробиотика бациллакт в составе трансдермальных терапевтических систем. Российский иммунологический журнал. 2017; 11(2-20):126-129.
3. Забокрицкий Н.А. Принципиальные направления научных исследований по обоснованию и



разработке новых иммунобиологических препаратов. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2018; S(81):85-86.

4. Забокрицкий Н.А., Сарапульцев П.А. Экспериментальное обоснование возможности создания нового метаболитического препарата. Российский иммунологический журнал. 2018; 3(12-21):295-300. doi:10.31857/S102872210002398-2.

5. Забокрицкий Н.А. Фармакологическая оценка иммуностропной активности нового гелевого метаболита на факторы клеточного и гуморального иммунитета при экспериментальном моделировании термических ожогов кожи. Российский иммунологический журнал. 2020; 2(23):125-132. doi:10.46235/1028-7221-314-РАО.

6. Забокрицкий Н.А. Изучение цитопротекторных свойств метаболитов штамма *Bacillus subtilis* В-9909 на культуре выделенных гепатоцитов. Вестник уральской медицинской академической науки. 2022; 19(3):203-209. doi:10.22138/2500-0918-2022-19-3-203-209.

7. Лабинская А.С., Блинкова Л.П., Ещина А.С., Булаева Г.В., Вертиев Ю.В., Винокуров А.Е., Горобец О.Б., Дарбеева О.С., Жиленков Е.Л., Зверьков Д.А., Иванова С.М., Иванова Т.С., Корн М.Я., Кривопалова Н.С., Лукин И.Н., Мельникова В.А., Нехорошева А.Г., Романова Ю.М., Сидоренко С.В., Скаженик В.Ю., Скала Л.З., Трухина Г.М. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований. СПб:Лань, 2016; 588.

8. Lee N.K., Kim W.S., Paik H.D. *Bacillus* strains as human probiotics: characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. Food Sci Biotechnol. 2019; 28(5):1297-1305. doi:10.1007/s10068-019-00691-9.

## Автор

Забокрицкий Николай Александрович

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (ИИФ УрО РАН)

Д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии  
Екатеринбург, Российская Федерация  
pharmusma@rambler.ru

*N.A. Zabokritskiy*

## THE STUDIES ON PHARMACOLOGICAL ASSESSMENT OF THE TOXICITY OF NEW BIO COMPOUNDS

Institute of Immunology and Physiology  
of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

**Abstract.** The paper presents the results of experimental studies on the pharmacological assessment of the acute toxicity of the use of the developed new biocompounds. *The purpose of the study* was to conduct an experimental pharmacological assessment of the acute toxicity in laboratory animals of the developed new biocompounds when administered intragastrically. *Material and methods.* An experimental pharmacological assessment of the acute toxicity of the developed new biocompounds was carried out on laboratory animals (white mice) with intragastric administration. The work used experimental samples of new promising probiotic preparations “Phoenix-1” and “Phoenix-2”, based on saprophytic microorganisms of the *Bacillus* species. The animals were observed for two weeks. During the observations, changes in appearance, condition of skin and fur, eyes and mucous membranes, breathing, behavior, motor activity, defecation and urination were recorded; special attention was paid to assessing the possible phenomena of tremor, convulsions and seizures, salivation, diarrhea, lethargy, sleep and coma. The animals’ body weights were measured weekly. *Results.* After two weeks, the experimental animals were removed on an empty stomach under anesthesia. The results of the study showed that experimental samples “Phoenix-1” and “Phoenix-2”, when administered intragastrically to mice, do not have acute toxicity. With intragastric administration, there

is no mortality of animals, the effect of drugs on the condition and behavior of animals, body weight, weight of the liver and stomach, the macroscopic state of organs at autopsy is absent, hematological parameters of peripheral blood do not differ from the control and do not go beyond physiological norms; The microscopic condition of the liver, stomach and small intestine in most animals is normal.

**Keywords:** acute toxicity, intragastral administration, biocompounds, probiotics, pharmacological assessment, safety in use

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Nikolay A. Zabokritskiy

pharmusma@rambler.ru

Received: 01.09.2024

For citation: Zabokritskiy N.A. The studies on pharmacological assessment of the toxicity of new bio compounds. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2024, Vol. 21, no. 3, pp. 335–345. DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-3-335-345 (In Russ)

## REFERENCES

1. Ardatskaya M.D., Stolyarova L.G., Arkhipova E.V., Filimonova O.Yu. Metabiotics as a natural development of a probiotic concept [Metabiotiki kak estestvennoe razvitie probioticheskoy koncepcii]. *Recipe= Recept*. 2019; 2(22):291-298. (In Russ).
2. Zabokritskiy N.A. Evaluation of the immunotropic effect of the probiotic acylact as part of transdermal therapeutic systems [Ocenka immunotropnogo dejstvija probiotika bacilakt v sostave transdermal'nyh terapevticheskikh system]. *Russian Journal of Immunology=Rossiyskiy immunologicheskij zhurnal*. 2017; 11(2-20):126-129. (In Russ).
3. Zabokritskiy N.A. Principal directions of scientific research on the substantiation and development of new immunobiological drugs [Principial'nye napravlenija nauchnyh issledovanij po obosnovaniju i razrabotke novyh immunobiologicheskikh preparatov]. *Experimental and clinical pharmacology=Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija*. 2018; S(81):85-86. (In Russ).
4. Zabokritskiy N.A., Sarapultsev P.A. Experimental justification of the possibility of creating the new metabolic drug [Jeksperimental'noe obosnovanie vozmozhnosti sozdaniya novogo metabolicheskogo preparata]. *Russian Journal of Immunology=Rossiyskiy immunologicheskij zhurnal*. 2018; 3(12-21):295-300. (In Russ). doi:10.31857/S102872210002398-2.
5. Zabokritskiy N.A. Pharmacological assessment of immunotropic activity of new gel metabiotic on cellular and humoral immunity in experimental modeled thermal skin burns [Farmakologicheskaja ocenka immunotropnoj aktivnosti novogo gelevogo metabiotika na faktory kletochnogo i gumoral'nogo immuniteta pri jeksperimental'nom modelirovanii termicheskikh ozhogov kozhi]. *Russian Journal of Immunology=Rossiyskiy immunologicheskij zhurnal*. 2020; 2(23):125-132. (In Russ). doi:10.46235/1028-7221-314-PAO.
6. Zabokritskiy N.A. Experimental evaluation of the cytoprotective effect of probiotic metabolites of *Bacillus subtilis* B-9909 strain on the culture of isolated hepatocytes [Izuchenie citoprotekturnyh svojstv metabolitov shtamma *Bacillus subtilis* B-9909 na kul'ture vydelennyh gepatocitov]. *Journal of Ural Medical Acedemic Science=Vestnik uralskoy medicinskoy akademicheskoy nauki*. 2022; 19(3):203-209. (In Russ). doi:10.22138/2500-0918-2022-19-3-203-209.
7. Labinskaya A.S., Blinkova L.P., Eshina A.S., Bulaeva G.V., Vertiev Yu.V., Vinokurov A.E., Gorobets O.B., Darbeeva O.S., Zhilenkov E.L., Zverkov D.A., Ivanova S.M., Ivanova T.S., Korn M.Ya., Krivopalova N.S., Lukin I.N., Melnikova V.A., Nekhorosheva A.G., Romanova Yu.M., Sidorenko S.V., Skazenik V.Yu., Skala L.Z., Trukhina G.M. *General and Sanitary Microbiology with the Technique of microbiological research [Obshhaja i sanitarnaja mikrobiologija s tehnikoj mikrobiologicheskikh issledovanij]*. Saint Petersburg: Lan=SPb: Lan', 2016; 588. (In Russ).
8. Lee N.K., Kim W.S., Paik H.D. *Bacillus* strains as human probiotics: characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. *Food Sci Biotechnol*. 2019; 28(5):1297-1305. doi:10.1007/s10068-019-00691-9.

**Auhtor**

Nikolay A. Zabokritskiy

Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (IIP UB RAS)

MD, Associate Professor, Senior Researcher of the Laboratory of Immunophysiology and Immunopharmacology

Yekaterinburg, Russian Federation

pharmusma@rambler.ru