

Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии имени В.Р. Филиппова. 2024. № 4 (77). С. 91–97.

BuryatAgrarian Journal. 2024;4(77):91–97.

Научная статья

УДК 619.615.9:611.36-091

doi: 10.34655/bgsha. 2024.77.4.012

## Изучение хронической токсичности нового миорелаксанта на белых крысах

**Гузалия Рустамовна Ямалова**

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Россия

iamalova85@mail.ru

**Аннотация.** Для отлова животных применяют миорелаксанты периферического действия, которые отличаются по составу, механизму действия, способности расслаблять различные группы мышц, также по эффективности воздействия при разных способах введения. В отделении токсикологии ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» получен препарат с миорелаксирующим действием. Важным этапом доклинической оценки безопасности нового лекарственного препарата является изучение его хронической токсичности, направленное на выявление возможности обратимости желаемого токсического эффекта, что и определило цель данного исследования. Целью исследования являлось изучение хронической токсичности разработанного миорелаксанта на белых крысах. Хроническую токсичность оценивали на 36 беспородных белых крысах обоего пола, весом от 170 до 220 г. Всего было сформировано три группы животных. Животным первой контрольной группы внутримышечно вводили воду для инъекций, второй – 1/10 смертельной дозы ( $LD_{50}$ ) миорелаксанта (0,26 мг/кг массы тела), третьей – полутора кратную дозу от 1/10  $LD_{50}$  препарата, что соответствовало 0,39 мг/кг массы тела. Результаты исследований продемонстрировали, что парентеральное длительное введение миорелаксанта не оказывает существенного влияния на массу и температуру тела лабораторных животных, не вызывает негативного воздействия на гематологические и биохимические показатели крови белых крыс. Таким образом, препарат с миорелаксирующим действием не обладает хронической токсичностью при длительном введении белым крысам.

**Ключевые слова:** миорелаксанты, обездвиживание, препарат, хроническая токсичность, белые крысы.

Original article

## Study of the chronic toxicity of a new muscle relaxant on white rats

**Guzaliya R. Yamalova**

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russia

iamalova85@mail.ru

**Abstract.** For trapping animals, peripheral muscle relaxants are used, which differ in composition, mechanism of action, ability to relax various muscle groups, as well as in the effectiveness of exposure with different methods of administration. A drug with a muscle relaxant

effect was developed in the Department of Toxicology of the FSBSI «FCTRBS-ARRVI». An important stage in the preclinical evaluation of the safety of a new drug is the study of its chronic toxicity, aimed at identifying the possibility of reversibility of the desired toxic effect, which determined the purpose of this study. The aim of the research was to study the chronic toxicity of the developed muscle relaxant in white rats. Chronic toxicity was evaluated on 36 outbred white rats of both sexes, weighing from 170 to 220 g. In total, three groups of animals were formed. The animals of the first control group were intramuscularly administered with water for injections, the second - 1/10 of the lethal dose ( $LD_{50}$ ) of muscle relaxant (0.26 mg/kg of body weight), the third - a one-and-a-half dose of 1/10  $LD_{50}$  of the drug, which corresponded to 0.39 mg/kg of body weight. The results of the studies demonstrated that parenteral long-term administration of a muscle relaxant neither significantly affected the body weight and temperature of laboratory animals, nor caused a negative effect on hematological and biochemical parameters of the blood of white rats. Thus, the drug with a muscle relaxant effect does not have chronic toxicity when administered for a long time to white rats.

**Keywords:** muscle relaxants, immobilization, drug, chronic toxicity, white rats.

**Введение.** Разработка иммобилизирующих препаратов позволяет уменьшить вероятность травмирования диких животных при отлове и снизить риск нападения животного на сотрудников, участвующих в отлове [1, 2, 3]. Для отлова животных преимущественно применяются миорелаксанты периферического действия, которые отличаются по составу, механизму действия, способности расслаблять различные группы мышц, также по эффективности воздействия при разных способах введения [4, 5, 6].

В процессе лабораторного синтеза в отделении токсикологии ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» получен препарат с миорелаксирующим действием. С момента создания нового препарата процесс его разработки тесно связан с доклиническими исследованиями. Одним из обязательных этапов доклинической оценки нового лекарственного препарата является изучение его хронической токсичности на лабораторных животных, направленное на выявление возможности обратимости желаемого токсического эффекта [7, 8].

**Целью исследования** являлось изучение хронической токсичности нового миорелаксанта на белых крысах.

**Объекты и методы исследований.**

Доклиническое изучение общетоксического действия нового препарата проводилось в соответствии с рекомендациями [9]. Миорелаксант разработан сотрудниками лаборатории сильнодействующих и ядовитых веществ и химического синте-

за отделения токсикологии ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» и представляет собой порошок белого цвета, который перед введением растворяли в воде для инъекций. Хроническую токсичность проводили на 36 белых беспородных крысах обоего пола, живой массой от 170 до 220 г. Было сформировано три группы: первая контрольная группа, где животным вводили внутримышечно воду для инъекций из расчета 0,1 мл на 100 г животное; вторая экспериментальная – вводили 1/10 смертельной дозы ( $LD_{50}$ ) миорелаксанта (0,26 мг/кг массы тела); и третья экспериментальная группа, получавшая полуторакратную дозу от 1/10  $LD_{50}$  препарата (0,39 мг/кг массы тела).

Для оценки хронической токсичности использовалось длительное внутримышечное введение в течение 14 дней, последующие 14 суток велись наблюдения за общим состоянием животных, двигательной активностью, силой хвата, реакцией на раздражители, частотой и глубиной дыхательных движений, а также количеством потребляемой пищи и воды [10]. Температуру и массу тела животных фиксировали перед первым введением препарата и через 7, 14 и 28 дней опыта. По завершении исследований на 28 сутки опыта произвели взятие крови для гематологических, биохимических показателей и вскрытие животных с изучением макроскопической картины внутренних органов.

Для изучения клинических показателей были применены гематологический Mythic 18 и биохимический анализаторы APD-200 [11, 12].

Статистическую обработку данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента методом расчета среднего арифметического (M) и ошибки среднего

значения (m).

**Результаты исследования и их обсуждение.** Результаты исследований показали, что в ходе эксперимента не было обнаружено значительных изменений в массе тела крыс по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

**Таблица 1** – Влияние длительного внутримышечного введения миорелаксанта на динамику массы тела белых крыс, г (M±m)

Группа животных	Срок исследования			
	Фон	7-й день	14-й день	28-й день
1 группа (контроль)	206,33±2,21	217,50±4,18	250,33±2,91	257,67±5,21
2 группа	203,00±2,39	218,17±2,18	252,50±2,15	252,50±2,15
3 группа	204,00±1,59	212,50±2,19	244,00±1,36	246,50±2,89

Исследование температуры тела в начале эксперимента показало, что у всех крыс контрольной и опытных групп, которым вводили миорелаксанта в дозах 0,26 и 0,39 мг/кг, изучаемый показатель нахо-

дился в пределах нормы. В течение всего периода исследования показатель температуры тела не претерпевал значительных отличий от контрольных животных (табл. 2).

**Таблица 2** – Влияние длительного внутримышечного введения миорелаксанта на температуру тела белых крыс, °C (M±m)

Группа животных	Срок исследования			
	Фон	7-й день	14-й день	28-й день
1 группа (контроль)	37,68±0,19	37,70±0,21	37,74±0,27	37,60±0,16
2 группа	37,86±0,27	37,72±0,23	37,63±0,19	37,58±0,13
3 группа	37,62±0,33	37,58±0,23	37,80±0,22	37,68±0,33

Гематологические показатели белых крыс в ходе эксперимента представлены в таблице 3.

**Таблица 3** – Влияние длительного внутримышечного введения миорелаксанта на гематологические показатели крыс (M±m)

Показатель	Срок исследования, сут.		
	7-й день	14-й день	28-й день
1 группа (контроль)			
Лейкоциты x 10 <sup>9</sup> /л	7,70±0,25	7,6±0,3	7,70±0,35
Лимфоциты, %	65,80±2,96	64,4±2,61	67,10±2,83
Моноциты, %	5,10±0,64	5,0±0,3	4,90±0,73
Гранулоциты, %	29,10±0,87	30,63±0,73	28,00±1,24
Эритроциты x 10 <sup>12</sup> /л	7,81±0,52	7,71±0,63	8,21±0,78
Гематокрит, %	42,80±2,46	47,24±2,84	46,50±2,51
Гемоглобин, г/л	117,20±1,81	116,31±2,30	118,00±1,78

Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	14,70±0,92	15,12±0,83	15,70±0,75
Тромбоциты x10 <sup>9</sup> /л	552,70±15,95	587,53±14,84	563,20±16,67
2 опытная, миорелаксант, доза 0,26 мг/кг			
Лейкоциты x 10 <sup>9</sup> /л	7,90±0,23	7,70±0,36	7,70±0,26
Лимфоциты, %	59,40±6,71	65,40±7,28	64,50±8,71
Моноциты, %	5,10±0,66	4,80±0,52	5,00±0,43
Гранулоциты, %	35,50±3,28	29,80±4,37	30,50±3,87
Эритроциты x 10 <sup>12</sup> /л	7,44±0,38	7,72±0,46	8,37±0,82
Гематокрит, %	41,00±3,57	44,70±2,91	46,70±3,31
Гемоглобин, г/л	116,60±2,61	119,80±3,26	117,10±2,75
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	15,50±0,73	16,20±0,87	16,00±0,56
Тромбоциты x10 <sup>9</sup> /л	621,70±7,76	637,50±8,38	628,90±7,84
3 опытная, миорелаксант, доза 0,39 мг/кг			
Лейкоциты x 10 <sup>9</sup> /л	7,80±0,25	7,70±0,31	7,50±0,36
Лимфоциты, %	64,50±2,36	63,90±3,63	67,90±3,85
Моноциты, %	5,50±0,45	5,20±0,48	5,60±0,91
Гранулоциты, %	30,00±3,26	30,90±2,52	29,50±1,86
Эритроциты x 10 <sup>12</sup> /л	7,90±0,49	7,80±0,56	8,26±0,61
Гематокрит %	45,90±0,28	44,40±0,32	44,70±0,43
Гемоглобин, г/л	148,20±7,47	151,30±6,52	141,00±7,84
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	21,30±0,46	22,20±0,63	20,90±0,74
Тромбоциты x10 <sup>9</sup> /л	210,80±34,83	166,50±41,44	96,10±31,76

Важным аспектом определения потенциальной опасности лекарственных препаратов для людей и животных является анализ гематологических показателей [13, 14]. Эритроциты активно участвуют в транспорте и нейтрализации вредных веществ, а их оболочка является уникальным сорбентом. Лейкоциты, в отличие от эритроцитов, являются одним из видов кровяных клеток, выполняющих огромную роль в иммунной системе организма. Многократное поступление препарата лабораторным животным в исследуемых дозах не выявило достоверных различий при исследовании гематологических показателей крови животных контрольной и опытных групп. Из таблицы 3 видно, что исследуемые показатели находились в пределах физиологической нормы для белых крыс.

Биохимические исследования играют важную роль при создании новых эффек-

тивных лекарственных форм. Данные биохимических исследований сыворотки опытных крыс представлены в таблице 4.

О состоянии белкового и углеводного обмена свидетельствуют такие показатели, как белок и глюкоза. От этих показателей зависит рост и развитие организма. Из данных таблицы 4 видно, что количество белка и глюкозы находятся в пределах референсных значений. Уровни аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ) и щелочной фосфатазы (ЩФ) также являются важными показателями, указывающими на состояние печени. Печень – важный орган, в котором происходит биотрансформация лекарственных веществ. В нашем эксперименте активность ферментов АСТ, АЛТ и ЩФ была незначительной, уровень изучаемых показателей соответствовал физиологической норме данного вида животных. Идентичной закономерностью

**Таблица 4** – Влияние длительного внутримышечного введения миорелаксанта на биохимические показатели крыс ( $M \pm m$ )

Показатель	Срок исследования		
	7-й день	14-й день	28-й день
1 группа (контроль)			
Общий белок, г/л	68,90±3,54	72,50±2,12	71,60±0,86
Глюкоза, ммоль/л	4,30±0,17	4,30±0,17	4,50±0,19
АЛТ, Ед/л	70,20±0,86	69,70±0,43	68,80±1,37
АСТ, Ед/л	57,70±0,53	58,20±0,86	56,90±1,25
ЩФ, Ед/л	45,60±2,63	46,70±1,37	48,20±2,01
Холестерин общий, ммоль/л	2,40±0,33	2,60±0,17	2,80±0,26
2 опытная, миорелаксанта, доза 0,26 мг/кг			
Общий белок, г/л	70,40±3,37	73,60±0,22	73,80±1,76
Глюкоза, ммоль/л	4,30±0,08	4,20±0,13	4,30±0,08
АЛТ, Ед/л	69,80±7,65	77,50±4,63	75,70±1,90
АСТ, Ед/л	44,20±25,55	70,10±13,01	67,90±2,31
ЩФ, Ед/л	48,30±3,22	44,30±4,05	45,20±2,97
Холестерин общий, ммоль/л	2,50±0,37	2,90±0,32	2,70±0,18
3 опытная, миорелаксанта, доза 0,39 мг/кг			
Общий белок, г/л	70,40±2,33	71,70±1,07	72,8±0,06
Глюкоза, ммоль/л	4,20±0,17	4,40±0,13	4,30 ±0,07
АЛТ, Ед/л	69,00±1,90	66,73±2,23	67,30±1,64
АСТ, Ед/л	46,80±20,97	68,60±25,01	41,30±27,33
ЩФ, Ед/л	47,30±1,48	45,30±1,94	46,20±1,02
Холестерин общий, ммоль/л	2,60±0,21	2,80±0,17	2,60±0,21

обладает содержанием холестерина в крови, который не претерпевал существенных различий от контрольной группы.

По окончании эксперимента было проведено патологоанатомическое исследование животных для выявления макроскопических изменений в органах, которые не были обнаружены.

**Заключение.** Таким образом, многократное внутримышечное введение нового миорелаксанта не оказывало суще-

ственного влияния на массу и температуру тела лабораторных животных, а также не вызывало негативного воздействия на гематологические и биохимические показатели крови белых крыс. Также не выявлены патологические изменения при изучении макроскопической картины внутренних органов. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии хронической токсичности у миорелаксанта при длительном введении белым крысам.

#### Список источников

1. Изучение острой токсичности препарата М-4 на белых крысах / Ямалова Г.Р. [и др.] // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства. 2021. № 23. С. 621-623. EDN: KEZOAG.
2. Урядов В.Г. [и др.] Блокаторы холинорецепторов. Часть 1. Миорелаксанты. Становление представлений // Бутлеровские сообщения. 2022. Т. 72. № 10. С. 17–25. EDN: VXHVSS. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/22-72-10-17.
3. Синтез и миопаралитическая активность бискватернизированных аммонийных производных дикарбоновых кислот / Р.М. Асланов [и др.] // Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии : материалы VI Международного конгресса, Санкт-Петербург, 15–17 мая 2024 года. Санкт-Петербург: Издательство ЛЕМА, 2024. С. 7-11. EDN: VISNGB.
4. Исследование токсичности и эффективности препарата М-3 на белых крысах / А.В. Маланьев [и др.]

др.] // Современные проблемы экспериментальной и клинической токсикологии, фармакологии и экологии : сборник тезисов докладов международной научно-практической конференции, Казань, 09–10 сентября 2021 года. Казань: Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, 2021. С. 227-229. EDN: MJPLUP.

5. Оценка острой токсичности препарата «МА-34А» на белых крысах / А.И. Замалетдинова [и др.] // Ветеринарный врач. 2024. № 1. С. 13–22. EDN: RKMNRE. doi: 10.33632/1998-698X\_2024\_1\_13.

6. Синтез и прогнозирование *in silico* спектров биологической активности нового миорелаксанта из группы бис-четвертичных аммониевых солей / И.М. Фицев [и др.] // Химия и химическая технология в XXI веке : материалы XXIV международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л.П. Кулёва и Н.М. Кижнера, посвященной 85-летию со дня рождения профессора А.В. Кравцова. Томск, 15–19 мая 2023 года. Том 1. Томск: Национальный исследовательский Томский политехнический университет, 2023. С. 343-344. EDN: DEADTR.

7. Фармакологическая коррекция гепатотоксичности индуцированной Кинмиксом / Э.К. Рахматуллин [и др.] // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2023. № 2. С. 67-70. EDN: QMXNWR. doi: 10.31857/2500-2082/2023/2/67-70.

8. Перфилова К.В. [и др.] Определение хронической токсичности профилактического средства «Цеапитокс» // Ветеринарный врач. 2021. № 4. С. 50-57. EDN: ОГУГВТ. doi: 10.33632/1998-698X.2021-4-50-57.

9. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А.Н. Миронова. М: Гриф и К, 2012. 944 с.

10. Оценка хронической токсичности композиции лечебных средств для устранения последствий токсикозов / И.И. Идиятов [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2020. Т. 244. № 4. С. 92-96. EDN: АТYYNG. doi: 10.31588/2413-4201-1883-244-4-92-97.

11. Влияние комплексного сорбента на биохимический статус сыворотки крови цыплят-бройлеров при экспериментальном микотоксикозе / Н.Н. Мишина [и др.] // Ветеринария. 2023. № 9. С. 61-64. EDN: DFZUSA. doi: 10.30896/0042-4846.2023.26.9.61-64.

12. Влияние периферических релаксантов «МА-6» и «МА-7» на клинические, гематологические и биохимические показатели белых крыс / К.Ф. Халикова [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2022. Т. 251. № 3. С. 283-288. EDN: CXSONV. doi: 10.31588/2413\_4201\_1883\_3\_251\_283.

13. Мишина Н.Н. Изучение хронической токсичности кормовой добавки «Комплисорбин» на кроликах // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. 2023. № 4 (73). С. 80-87. EDN: ZNOWMZ. doi: 10.34655/bgsha.2023.73.4.010.

14. Оценка безопасности нового противотуберкулезного препарата *in silico* и при участии здоровых добровольцев / А.Ю. Савченко, Г.В. Раменская, В.Г. Кулес [и др.] // Фармакогенетика и фармакогеномика, 2021. № 1. С. 42-47. EDN: JGYSEU. doi: 10.37489/2588-0527-2021-1-42-47

## Referenses

1. Yamalova G.R. [et al.] Acute toxicity of the preparation M-4 for white rats. *Topical issues of improving the technology of production and processing of agricultural products*. 2021;23:621-623 (In Russ.).

2. Uryadov V.G. [et al.] Blockers of holinoretseptors. Part 1. Muscle relaxants. Formation of representations. *Butlerov's messages*. 2022;Vol.72.No.10:17-25 (In Russ.). doi: 10.37952/ROI-jbc-01/22-72-10-17.

3. Aslanov R.M. [et al.] Synthesis and myoparalytic activity of bisquaternized ammonium derivatives of dicarboxylic acids. *Effective and safe medicines in veterinary medicine* : Proc. of the VI Int. Congress, St. Petersburg, May 15-17, 2024. St. Petersburg, 2024. Pp. 7-11 (In Russ.).

4. Investigation of the toxicity and effectiveness of the drug M-3 in white rats / A.V. Malanov [et al.]. *Modern problems of experimental and clinical toxicology, pharmacology and ecology* : Collection of abstracts of the Int. Sci. and Pract. Conf., Kazan, September 09-10, 2021. Kazan: Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, 2021. Pp. 227-229.

5. Acute toxicity of the preparation "MA-34A" for white rats/ A.I. Zamaletdinova [et al.]. *The Veterinarian*. 2024;1:13-22 (In Russ.). doi: 10.33632/1998-698X\_2024\_1\_13.

6. Fitsev I. M. [et al.] Synthesis and prediction *in silico* of biological activity spectra of a new muscle relaxant from the group of bis-quaternary ammonium salts. *Chemistry and chemical technology in the XXI century* : Proc. of the XXIV Int. Sci. and Pract. Conf. of students and young scientists. Tomsk, May 15-19, 2023. Vol.1. Tomsk: National Research Tomsk Polytechnic University, 2023. pp. 343-344 (In Russ.).

7. Rakhmatullin E.K. [et al.] Pharmacological correction of hepatotoxicity induced by Kinmix. *Bulletin of the Russian agricultural science*. 2023; 2: 67-70 (In Russ.). doi: 10.31857/2500-2082/2023/2/67-70.

8. Perfilova K.V. [et al.] Determination of chronic toxicity of the preventive agent "Zeapitox". *The Veterinarian*. 2021; 4: 50-57 (In Russ.). doi: 10.33632/1998-698X.2021-4-50-57.

9. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part One / Ed. by A.N. Mironov. Moscow. Grif and K, 2012. 944 p. (In Russ.).

10. Idiatov I.I. [et al.] Assessment of the chronic toxicity of the composition of medicinal products to eliminate the effects of toxicosis. *Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman*. 2020; Vol. 244. No 4: 92-96 (In Russ.). doi: 10.31588/2413-4201-1883-244-4-92-97.

11. Mishina N.N. [et al.] Influence of complex sorbent in the diet of broiler chickens on the biochemical status of blood serum in experimental micotoxicosis. *Veterinary medicine*. 2023;9:61-64 (In Russ.). doi: 10.30896/0042-4846.2023.26.9.61-64.

12. Khalikova K.F. [et al.] Effect of peripheral relaxants “ma -6” and “ma-7” on clinical, hematological and biochemical parameters of white rats. *Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman*. 2022; Vol. 251. No 3:283-288 (In Russ.). doi: 10.31588/2413\_4201\_1883\_3\_251\_283.

13. Mishina N.N. [et al.] Study of the chronic toxicity of the feed supplement “Complisorbin” in rabbits. *Vestnik of Buryat State Academy of Agriculture named after V. Philippov*. 2023;4(73):80-87 (In Russ.). doi: 10.34655/bgsha.2023.73.4.010.

14. Savchenko A.Yu. Ramenskaya G.V., Kukes V.G., Burenkov M.S., Shilov B.V. safety assessment of a new anti-tuberculosis drug in silico and with the participation of healthy volunteers. *Pharmacogenetics and pharmacogenomics*. 2021;1:42-47 (In Russ.). doi: 10.37489/2588-0527-2021-1-42-47

#### **Информация об авторе**

**Ямалова Гузалия Рустамовна** – младший научный сотрудник лаборатории фармакологии лекарственных средств, отделения токсикологии.

#### **Information about the author**

**Yamalova Guzaliya Rustamovna** – Junior Researcher at the Laboratory of Pharmacology of Medicines, Department of Toxicology.

Статья поступила в редакцию 03.07.2024; одобрена после рецензирования 09.10.2024; принята к публикации 15.10.2024.

The article was submitted 03.07.2024; approved after reviewing 09.10.2024; accepted for publication 15.10.2024.