

ISSN 1814-6023 (Print)  
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 615.2.615.032:615.038  
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-2-142-150>

Поступила в редакцию 31.05.2018  
Received 31.05.2018

О. А. Антипова<sup>1</sup>, И. П. Жаворонок<sup>1</sup>, Т. О. Павлуть<sup>1</sup>, Е. И. Пехтерева<sup>1</sup>, Т. Б. Мелик-Касумов<sup>1</sup>,  
С. А. Кодаленкова<sup>1</sup>, А. Л. Михальчук<sup>2</sup>, М. А. Кисель<sup>2</sup>, А. Ю. Молчанова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

## ХРОНИЧЕСКАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ ЛИПОСОМАЛЬНЫМИ ФОРМАМИ АМИДОВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

**Аннотация.** Производные жирных кислот рассматривают в качестве перспективных субстратов для разработки лекарственных и косметических средств. В этой связи необходимым является изучение их потенциальной токсичности, в том числе и хронической. Повторное введение мышам линии C<sub>57</sub>BL<sub>6</sub> на протяжении 62 сут *N*-пальмитоилглицина и *N*-пальмитоил-5-аминолевулиновой кислоты (заклученных в липосомы) показало, что действие последней менее токсично, о чем свидетельствует более низкая смертность животных. Выявленные токсические эффекты высоких доз как *PalGly*, так и *Pal-5-ALA* характеризовались гендерной зависимостью: самцы оказались более чувствительными к *PalGly*, тогда как самки – к *Pal-5-Ala*. Хроническое введение липосом на основе фосфатидилхолина (без *N*-ациламино кислот) вызвало гибель отдельных особей, что позволило предположить, что токсическое действие *PalGly* и *Pal-5-ALA* в липосомальной форме обусловлено, как минимум частично, влиянием самих липосом.

**Ключевые слова:** *N*-пальмитоилглицин, *N*-пальмитоил-5-аминолевулиновая кислота, хроническая токсичность, липосомы, выживаемость, летальные дозы

**Для цитирования:** Хроническая интоксикация липосомальными формами амидов жирных кислот в эксперименте / О. А. Антипова [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 2. – С. 142–150. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-2-142-150>

О. А. Antipova<sup>1</sup>, I. P. Zhavoronok<sup>1</sup>, T. O. Pavlut<sup>1</sup>, E. I. Pehtereva<sup>1</sup>, T. B. Melik-Kasumov<sup>1</sup>,  
S. A. Kodalenkova<sup>1</sup>, A. L. Mihal'chuk<sup>2</sup>, M. A. Kisel<sup>2</sup>, A. Yu. Molchanova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

## CHRONIC INTOXICATION WITH LIPOSOMAL FATTY ACID AMIDES IN THE EXPERIMENT

**Abstract.** The derivatives of fatty acids are considered as promising bases for the development of medicinal and cosmetic agents. In this regard, it is necessary to study their potential toxicity, including chronic. In repeated toxicity experiments on mice of C57BL6 line, the administration of *N*-palmitoyl-5-aminolevulinic acid (within liposomes) for 62 days was less toxic than *N*-palmitoylglycine injected in the same regimen, which resulted in lower mortality of animals. The toxic effects of high doses, both *PalGly* and *Pal-5-ALA*, are characterized by a gender dependence: males were more sensitive to *PalGly*, whereas females – to *Pal-5-Ala*. Chronic administration of liposomes of phosphatidylcholine (without *N*-acylamino acids) caused the death of several mice, suggesting that the toxic effects of *PalGly* and *Pal-5-ALA* in liposomal form are at least partly due to the influence of the liposomes themselves.

**Keywords:** *N*-palmitoylglycine, *N*-palmitoyl-5-aminolevulinic acid, chronic toxicity, liposomes, survival, lethal doses

**For citation:** Antipova O. A., Zhavoronok I. P., Pavlut T. O., Pehtereva E. I., Melik-Kasumov T. B., Kodalenkova S. A., Mihal'chuk A. L., Kisel M. A., Molchanova A. Yu. Chronic intoxication with liposomal fatty acid amides in the experiment. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 2, pp. 142–150 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-2-142-150>

**Введение.** Одним из активно развивающихся направлений современной фармакологии является изучение физиологических эффектов липидных сигнальных молекул, играющих важную роль во внутри- и межклеточных коммуникациях. К таким молекулам в последнее десятилетие относят и *N*-ацильные конъюгаты аминокислот и длинноцепочечных жирных кислот.

В настоящее время известно около 70 эндогенных *N*-ациламино кислот. Физиологическая роль большинства из них пока не ясна [1, 2], однако некоторые представители этого семейства липидных молекул, такие как *N*-пальмитоилглицин (*PalGly*), *N*-пальмитоил-5-аминолевулиновая

кислота (*Pal-5-ALA*) и др., считаются перспективными субстратами для разработки новых лекарственных средств. В частности, получены экспериментальные свидетельства их выраженного антиноцицептивного эффекта [3]. Вместе с тем необходимо дальнейшее тщательное изучение как протекторных физиологических эффектов указанных липидных сигнальных соединений, так и их возможного негативного влияния и токсического действия.

Цель настоящей работы – оценить токсичность *N*-пальмитоилглицина и *N*-пальмитоил-5-аминолевулиновой кислоты при хроническом их введении и выявить наиболее чувствительные органы-мишени у мышей линии  $C_{57}BL_6$ .

**Материалы и методы исследования.** Эксперименты проведены на 171 половозрелой мыши линии  $C_{57}BL_6$  обоего пола (86 самцах и 85 самках) массой 15–16 г.

Животных содержали в виварии Института физиологии НАН Беларуси в соответствии с установленными нормами. Эксперименты проводили с соблюдением правовых и этических норм обращения с животными согласно национальным и международным стандартам качества планирования и проведения исследований [4–8].

До начала исследования животные в течение 5–7 сут находились в клетках на карантине для адаптации. В течение этого периода проводили ежедневный осмотр каждого животного (поведение и общее состояние). Перед началом исследования животных, отвечающих критериям включения в эксперимент (активные, подвижные, с гладким, блестящим шерстным покровом, нормальной окраской видимых слизистых оболочек, охотно поедающие корм), были разделены на группы методом рандомизации. Каждому животному был присвоен индивидуальный номер [4–8].

Эмульсии липосом, состоящие из фосфатидилхолина (ФХ) с включением *PalGly* или *Pal-5-ALA*, были синтезированы в лаборатории химии липидов ИБОХ НАН Беларуси. Массовая концентрация ФХ в эмульсии составляла 6,75 мг/мл, *PalGly* – 2,35, *Pal-5-ALA* – 2,77 мг/мл. Различия в массовой концентрации *PalGly* и *Pal-5-ALA* допущены с целью получения их одинаковой молярной концентрации – 7,5 мкмоль/мл.

Индивидуальный вводимый объем *PalGly* и *Pal-5-ALA* рассчитывали исходя из массы тела каждого животного, а при длительном введении его корректировали после каждого взвешивания 1 раз в неделю. Точности дозирования достигали путем изменения объема вводимого раствора при его постоянной концентрации. Дозирование осуществляли, учитывая содержание активных компонентов (*PalGly* и *Pal-5-ALA*). Для сравнения отдельной группе животных вводили ФХ (тем же способом, что и *PalGly* и *Pal-5-ALA*) в 10-кратной разовой дозе (из расчета 0,2 мл на животное массой 20 г). Контролем служили интактные животные.

В зависимости от вводимой дозы животные были разделены на экспериментальные группы (наименьшая разовая доза (7,5 мкмоль/кг) – 11 самцов и 10 самок для введения *NPalGly*, 10 самцов и 11 самок для введения *Pal-5-ALA*; 5-кратная разовая доза (37,5 мкмоль/кг) – по 11 самцов и самок для введения *PalGly*, 12 самцов и 10 самок для введения *Pal-5-ALA*; 10-кратная разовая доза (75 мкмоль/кг) – 10 самцов и 12 самок для введения *PalGly*, по 11 самцов и самок для введения *Pal-5-ALA*) и контрольные группы (10-кратная разовая доза липосом на основе ФХ (растворитель) – 22 особи (по 12 самцов и 10 самок), интактные животные – 9 самцов и 10 самок).

*PalGly* и *Pal-5-ALA* вводили однократно ежедневно внутривентриально в трех дозах. По результатам исследования острой токсичности наименьшая разовая доза (из расчета 0,02 мл на животное массой 20 г) составляла 7,5 мкмоль/кг (*PalGly* – 2,35 мг/кг, *Pal-5-ALA* – 2,77 мг/кг), 5-кратная разовая доза (из расчета 0,1 мл на животное массой 20 г) – 37,5 мкмоль/кг (*PalGly* – 11,76 мг/кг, *Pal-5-ALA* – 13,86 мг/кг), 10-кратная разовая доза (из расчета 0,2 мл на животное массой 20 г) – 75 мкмоль/кг (*PalGly* – 23,51 мг/кг, *Pal-5-ALA* – 27,72 мг/кг). Общий период наблюдения составил 62 дня, при этом регистрировали время гибели, сроки развития и картину интоксикации, выживаемость, внешний вид, поведение, массу тела, потребление пищи и воды.

Выживших после введения тестируемых соединений особей на 63-и сутки подвергали эвтаназии. Всех животных (в том числе погибших в ходе эксперимента) подвергали некропсии и направляли на вскрытие для выявления макроскопически различимых признаков патологии внутренних органов. При некропсии исследовали внешнее состояние тела, грудную, брюшную и тазовую полости и проводили забор органов (легкие, сердце, печень, селезенка, почки, надпочечники и тимус) для определения их массы. Животных взвешивали перед вскрытием для рас-

чета массового коэффициента (МК). МК, интегральный показатель, используемый в токсикологии для оценки состояния внутренних органов (дает возможность выявления органа-мишени), рассчитывали по следующей формуле [9]:  $МК = \text{масса органа (г)}/\text{масса тела (г)} \cdot 100 \%$ .

Анализ данных выполняли с использованием программы Microsoft Excel с определением среднего арифметического значения и его стандартной ошибки  $M \pm m$ . Проверку на нормальность распределения количественных показателей осуществляли по критерию Шапиро–Уилка, значимость наблюдаемых отличий, ввиду относительно небольших размеров выборок, оценивали по  $U$ -критерию Манна–Уитни с помощью программы Statistica 10.0. В процессе обработки за уровень статистической значимости принимали  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Общее состояние и поведение животных на протяжении первых 30 сут наблюдения были удовлетворительными: шерстный покров яркий, блестящий, гладкий, без очагов облысения, кожа бледно-розовая, эластичная, подвижная, без повреждений. Начиная с 31-х суток сначала у самцов, которым вводили *Pal-5-ALA*, а затем и у отдельных особей (самцов и самок) из других групп отмечали алопецию в области головы, спины и брюха. Появились покраснения и шелушения кожи, а также ранки и царапины в области живота, особенно в месте инъекции. Видимые слизистые оболочки (глаз, носовой, ротовой полостей) бледно-розовые, чистые, без изъязвлений и посторонних наложений. Патологические выделения из естественных отверстий тела отсутствовали. Животные были активны, подвижны, реагировали на раздражители, охотно поедали корм и потребляли воду. Однако у отдельных особей (перед смертью) происходило снижение двигательной активности: мыши были вялые, апатичные, заторможенные, по клетке передвигались неактивно. В основном животные погибали в ночное время.

На протяжении всего периода наблюдения зафиксирована гибель 36 животных: 4 самцов и 5 самок после введения ФХ; 3 самцов и 3 самок после инъекции *PalGly* в дозе 7,5 мкмоль/кг; 5 самцов и 5 самок после инъекции *PalGly* в дозе 37,5 мкмоль/кг; 3 самцов и 3 самок после введения *PalGly* в дозе 75 мкмоль/кг. Введение *Pal-5-ALA* привело к гибели меньшего количества животных: 1 самца и 1 самки после введения дозы 7,5 мкмоль/кг; 1 самца и 1 самки после инъекции в дозе 37,5 мкмоль/кг; 1 самки после введения дозы 75 мкмоль/кг. Смертность не носила дозозависимый характер.

Динамика гибели экспериментальных животных была следующей: после инъекции ФХ на 2-е сутки пал 1 самец, гибель самцов в этой группе наблюдалась также на 51, 55 и 56-е сутки. После введения ФХ зафиксирована смерть 5 самок на 11, 43, 51, 60-е и 63-и сутки. *PalGly* в дозе 7,5 мкмоль/кг привел к гибели 3 самцов (32-е, 48-е и 53-и сутки) и 3 самок (56-е и 62-е сутки). Ежедневные инъекции *PalGly* в дозе 37,5 мкмоль/кг вызвали смерть 2 самцов на 45-е сутки, 2 – на 54-е и 1 – на 58-е. После введения *PalGly* в дозе 37,5 мкмоль/кг зафиксирована гибель 5 самок на 45, 47, 48, 49 и 61-е сутки. В группе животных, которым инъецировали *PalGly* в дозе 75 мкмоль/кг, помимо самца, павшего спустя 4–5 ч после инъекции в 1-е сутки, зафиксирована гибель еще 2 самцов на 45-е и 50-е сутки и 3 самок на 54-е и 60-е сутки. Среди мышей, которым вводили *Pal-5-ALA* в дозе 7,5 мкмоль/кг, зафиксирована гибель 1 самца (на 23-и сутки) и 1 самки (на 55-е сутки). После введения *Pal-5-ALA* в дозе 37,5 мкмоль/кг также пало 2 животных: 1 самец (на 22-е сутки) и 1 самка (на 52-е сутки). Ежедневное введение *Pal-5-ALA* в дозе 75 мкмоль/кг привело к гибели лишь 1 самки (58-е сутки). Смертность животных, получавших *PalGly*, была выше, но наступала позже, чем у мышей в группах, получавших *Pal-5-ALA*.

На протяжении всего эксперимента показатели массы тела самцов и самок, ежедневно получавших инъекции ФХ, *PalGly*, и интактных животных существенно не отличались между собой (табл. 1, 2). При сравнении с животными, получавшими ФХ, введение *PalGly* самцам в дозе 75 мкмоль/кг на 14-е сутки способствовало увеличению массы тела на 12 % (табл. 1). Также после инъекций самкам *PalGly* в максимальной дозе отмечалось увеличение массы тела по сравнению с животными, получавшими ФХ, на 56-е (на 22 %) и 63-и (на 28 %) сутки (табл. 2). Введение *Pal-5-ALA* в дозе 7,5 мкмоль/кг самцам (на 21-е и 35-е сутки) приводило к снижению массы тела в среднем на 16 % по сравнению с контролем (табл. 1). В свою очередь после введения самцам *Pal-5-ALA* в дозе 37,5 мкмоль/кг на 21, 28 и 49-е сутки происходило уменьшение массы тела по сравнению с интактными животными на 15, 13 и 6 % соответственно (см. табл. 1). Отмечено,

что прирост массы тела у самцов, получавших *Pal-5-ALA* в относительно высоких дозах (37,5 и 75 мкмоль/кг), был значительно меньше, чем в контрольной группе (табл. 1). Ежедневные инъекции *Pal-5-ALA* самкам, независимо от дозы, не вызывали существенных изменений массы тела по сравнению как с интактными животными, так и с животными, получавшими ФХ (табл. 2).

После прекращения введения *PalGly*, *Pal-5-ALA* и ФХ выживших животных подвергали эвтаназии, направляли на вскрытие и патоморфологическое исследование. Внешний осмотр трупов мышей (как самцов, так и самок, которым вводили тестируемые вещества) показал, что у отдельных особей имело место выпадение шерсти в области головы, спины и брюха, а на коже – покраснение и шелушение, особенно в месте инъекции. Патологические выделения из естественных отверстий тела у животных всех экспериментальных групп отсутствовали. При вскрытии грудной, брюшной и тазовой полостей отмечалось анатомически правильное расположение внутренних органов. Грудная и брюшная полости выпота не содержали. Однако на серозных оболочках внутренних органов брюшной полости в группах животных, которым вводили большие объемы эмульсий, отмечался характерный мелкозернистый белый налет, образовавшийся, по-видимому, вследствие недостаточной скорости всасывания липидов из брюшной полости. Форма сердца визуально не изменена, однако его размеры меньше по сравнению с контролем (табл. 3, 4). Форма селезенки по сравнению с таковой у интактных животных не изменена, однако у самок введение *PalGly* в большей степени, чем *Pal-5-ALA*, приводило к увеличению ее размеров (табл. 4). Не выявлено отклонений формы печени от нормы, но у самцов размеры этого органа после ежедневных инъекций *Pal-5-ALA* уменьшались по сравнению с контролем, а у самок при введении *PalGly* увеличивались (табл. 3, 4). Масса легких и почек экспериментальных животных не имели существенных сдвигов относительно интактных самок (табл. 4), в то время как у самцов, получавших *PalGly*, масса легких увеличивалась по сравнению с мышами, которым вводили ФХ (см. табл. 3), а у самцов, получавших *Pal-5-ALA*, масса легких и почек уменьшались по сравнению с контролем (табл. 3). Форма надпочечников существенно не отличалась от таковой у интактных животных, в то же время у самцов введение тестируемых веществ приводило к укрупнению органа. Масса тимуса самок не отличалась от аналогичного показателя у интактных мышей, за исключением снижения массы тимуса у группы животных, инъецированных ФХ (табл. 4). У самцов массы органа были снижены по сравнению с контролем (табл. 4).

Изменения массы внутренних органов, вызванные как *PalGly*, так и *Pal-5-ALA*, характеризовались четкой гендерной зависимостью. В то же время зависимости эффекта от дозы тестируемых веществ не прослеживалось. У самцов *PalGly* индуцировал увеличение массы надпочечников (при введении в дозе 7,5 мкмоль/кг – на 68 %,  $p = 0,020$ , а при дозе 37,5 мкмоль/кг – на 111 %,  $p = 0,005$ ) и уменьшение массы тимуса (на 51 % при дозе 7,5 мкмоль/кг,  $p = 0,001$ ) (табл. 3). Изменения массы внутренних органов, вызванные введением *PalGly*, у самок носили иной характер: повторное введение липида в дозе 37,5 мкмоль/кг приводило к гепатомегалии (на 21 %,  $p = 0,031$ ), а в дозе 75 мкмоль/кг (на 48 % по сравнению с мышами, получавшими ФХ,  $p = 0,019$ ) – к спленомегалии в той же дозе (на 72 % по сравнению с контролем,  $p = 0,003$ ; на 74 % по сравнению с ФХ,  $p = 0,042$ ) (табл. 4).

Длительное введение *Pal-5-ALA* самцам сопровождалось более выраженными, чем при введении *PalGly*, изменениями, что выражалось в уменьшении массы сердца (независимо от дозы, приблизительно на 27 %,  $p < 0,025$ ), печени (на 29 % при дозе 37,5 мкмоль/кг,  $p = 0,003$ ; на 20 % при дозе 75 мкмоль/кг,  $p = 0,038$ ), массы почек (на 26 % при дозе 37,5 мкмоль/кг,  $p = 0,012$ ), легких (на 24 % при дозе 37,5 мкмоль/кг,  $p = 0,046$ ), инволюции тимуса (независимо от дозы,  $p < 0,031$ ) и адреномегалией (на 44 % при дозе 7,5 мкмоль/кг,  $p = 0,008$ ) (см. табл. 3). У самок введение этого же липида на протяжении 62 сут приводило к уменьшению массы сердца (на 19 % при дозе 7,5 мкмоль/кг,  $p = 0,035$ ) и спленомегалии (на 66 % при дозе 37,5 мкмоль/кг,  $p = 0,028$ ) по сравнению с таковыми у интактных животных (табл. 4).

Динамика изменения МК внутренних органов имела схожую направленность, что и изменение их массы (табл. 5, 6). Вместе с тем зафиксированы и некоторые отличия. У самцов, которым ежедневно вводили ФХ, отмечался рост МК селезенки на 47 % по сравнению с интактными животными,  $p = 0,027$  (табл. 5). У самок после инъекций ФХ отмечалось снижение МК тимуса на 60 % по сравнению с контролем,  $p = 0,005$  (табл. 6). Длительное введение *PalGly* самцам помимо

Таблица 1. Масса тела мышей-самцов после повторного внутривентрального введения ФХ, PalGly и Pal-5-ALA, г (M ± m)

Table 1. Body weights of male mice after repeated intraperitoneal injection of Phosphatidylcholine (ФХ), PalGly and Pal-5-ALA, g (M ± m)

Препарат и вводимая доза	0-е сутки	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки	28-е сутки	35-е сутки	42-е сутки	49-е сутки	56-е сутки	63-е сутки
Контроль (интактные животные)	15,2 ± 1,1	17,6 ± 1,1	17,6 ± 0,9	18,8 ± 0,8	19,2 ± 0,8	20,3 ± 1,0	20,7 ± 1,0	20,7 ± 1,3	20,4 ± 1,1	21,0 ± 1,3
ФХ	16,5 ± 0,7	17,9 ± 0,7	16,5 ± 0,7	17,3 ± 0,8	18,2 ± 0,8	18,4 ± 0,9	18,5 ± 0,9	17,2 ± 1,2	17,6 ± 1,2	18,1 ± 1,3
PalGly, мкмоль/кг:										
7,5	14,7 ± 0,9	16,0 ± 1,1	16,7 ± 0,9	17,6 ± 1,1	16,6 ± 1,1	17,9 ± 1,4	18,5 ± 1,5	18,2 ± 1,7	19,6 ± 1,7	20,5 ± 1,8
37,5	15,5 ± 0,8	17,1 ± 0,9	17,4 ± 0,9	18,5 ± 0,8	17,6 ± 0,8	19,4 ± 0,9	19,3 ± 1,1	17,8 ± 1,7	19,6 ± 1,5	21,8 ± 1,5
75	16,9 ± 0,8	18,2 ± 0,6	18,4 ± 0,6#	19,1 ± 0,6	18,7 ± 0,6	19,8 ± 0,9	19,4 ± 0,8	19,5 ± 1,2	19,7 ± 1,0	19,4 ± 0,8
Pal-5-ALA, мкмоль/кг:										
7,5	15,4 ± 1,0	16,1 ± 0,9	16,1 ± 0,9	15,9 ± 1,0*	16,7 ± 1,1	16,9 ± 1,1*	18,1 ± 1,1	19,3 ± 1,4	19,6 ± 1,2	20,0 ± 1,3
37,5	15,8 ± 0,8	16,4 ± 1,0	15,3 ± 1,0	14,1 ± 1,3*	15,6 ± 1,2*	16,7 ± 1,2	17,1 ± 1,2	16,7 ± 1,2*	17,3 ± 1,1	17,4 ± 1,1
75	16,4 ± 1,2	17,2 ± 1,0	17,0 ± 0,9	16,6 ± 0,8	16,5 ± 0,9	18,1 ± 0,9	18,0 ± 1,0	18,0 ± 1,2	18,3 ± 1,2	18,3 ± 1,2

Примечание. Достоверность отличий ( $p < 0,05$ ): \* – от интактных мышей; # – от мышей, получавших ФХ (только для PalGly и Pal-5-ALA в дозе 75 мкмоль/кг). То же в табл. 2–6.

Таблица 2. Масса тела мышей-самок после повторного внутривентрального введения ФХ, PalGly и Pal-5-ALA, г (M ± m)

Table 2. Body weights of female mice after repeated intraperitoneal injection of Phosphatidylcholine (ФХ), PalGly and Pal-5-ALA, g (M ± m)

Препарат и вводимая доза	0-е сутки	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки	28-е сутки	35-е сутки	42-е сутки	49-е сутки	56-е сутки	63-е сутки
Контроль (интактные животные)	15,3 ± 0,6	16,3 ± 0,7	16,3 ± 0,6	17,0 ± 0,9	17,0 ± 0,9	18,1 ± 0,9	17,3 ± 0,8	17,0 ± 0,9	16,8 ± 0,9	17,6 ± 0,7
ФХ	15,2 ± 1,0	15,6 ± 1,0	15,6 ± 0,8	17,3 ± 1,0	16,4 ± 0,8	17,2 ± 0,8	16,3 ± 0,7	15,6 ± 1,0	15,1 ± 0,8	15,2 ± 1,1
PalGly, мкмоль/кг:										
7,5	15,0 ± 1,1	16,4 ± 1,0	14,8 ± 0,8	16,2 ± 0,8	16,8 ± 0,8	18,1 ± 0,7	18,6 ± 0,7	17,0 ± 0,7	16,0 ± 0,6	16,6 ± 1,2
37,5	15,6 ± 1,2	16,5 ± 1,2	15,3 ± 1,2	16,6 ± 1,1	17,1 ± 1,0	17,7 ± 0,9	17,3 ± 1,1	17,7 ± 1,4	17,4 ± 1,3	18,8 ± 1,6
75	14,8 ± 0,6	16,1 ± 0,6	15,8 ± 0,8	17,2 ± 0,7	18,0 ± 0,7	18,2 ± 0,7	18,7 ± 0,9	17,1 ± 1,0	18,4 ± 1,0#	19,4 ± 1,3#
Pal-5-ALA, мкмоль/кг:										
7,5	14,5 ± 1,0	16,0 ± 0,6	15,0 ± 0,8	17,2 ± 0,7	17,2 ± 0,7	17,1 ± 0,7	17,1 ± 1,0	16,4 ± 0,9	16,2 ± 0,9	16,2 ± 1,1
37,5	15,2 ± 1,1	16,8 ± 0,9	15,6 ± 1,0	16,3 ± 0,9	16,6 ± 1,0	16,9 ± 0,8	16,6 ± 0,8	17,6 ± 0,8	16,6 ± 1,0	17,4 ± 1,0
75	15,3 ± 0,7	15,0 ± 0,6	15,0 ± 0,8	15,5 ± 0,8	16,1 ± 0,7	16,8 ± 0,7	16,5 ± 0,8	14,8 ± 1,3	14,8 ± 1,1	16,7 ± 1,2

Т а б л и ц а 3. Масса внутренних органов мышей-самцов после 62 сут ежедневного внутривентрального введения ФХ, *PalGly* и *Pal-5-ALA*, г (M ± m)  
 T a b l e 3. The mass of internal organs of male mice after 62 days of daily intraperitoneal administration of Phosphatidylcholine (ФХ), *PalGly* and *Pal-5-ALA*, g (M ± m)

Препарат и вводимая доза	Сердце	Легкие	Печень	Селезенка	Почки	Надпочечники	Тимус
Контроль (интактные животные)	0,101 ± 0,008	0,152 ± 0,018	1,083 ± 0,070	0,091 ± 0,016	0,227 ± 0,019	0,004 ± 0,001	0,030 ± 0,004
ФХ	0,085 ± 0,004	0,126 ± 0,007	0,927 ± 0,091	0,108 ± 0,013	0,201 ± 0,015	0,006 ± 0,001	0,025 ± 0,005
<i>PalGly</i> , мкмоль/кг:							
7,5	0,092 ± 0,008	0,164 ± 0,015	1,055 ± 0,075	0,120 ± 0,019	0,205 ± 0,020	0,007 ± 0,001*	0,015 ± 0,002*
37,5	0,096 ± 0,017	0,151 ± 0,012	1,185 ± 0,074	0,119 ± 0,018	0,256 ± 0,018	0,009 ± 0,001*	0,030 ± 0,007
75	0,094 ± 0,007	0,163 ± 0,011#	1,069 ± 0,053	0,130 ± 0,011	0,206 ± 0,013	0,006 ± 0,001	0,020 ± 0,003
<i>Pal-5-ALA</i> , мкмоль/кг:							
7,5	0,074 ± 0,004*	0,128 ± 0,007	0,966 ± 0,066	0,087 ± 0,007	0,198 ± 0,017	0,006 ± 0,002*	0,020 ± 0,004*
37,5	0,073 ± 0,004*	0,116 ± 0,006*	0,764 ± 0,050*	0,054 ± 0,006	0,166 ± 0,013*	0,005 ± 0,000	0,020 ± 0,004*
75	0,075 ± 0,005*	0,137 ± 0,006	0,862 ± 0,063*	0,089 ± 0,007	0,199 ± 0,018	0,006 ± 0,001	0,018 ± 0,001*

Т а б л и ц а 4. Масса внутренних органов мышей-самок после 62 сут ежедневного внутривентрального введения ФХ, *PalGly* и *Pal-5-ALA*, г (M ± m)  
 T a b l e 4. The mass of the internal organs of female mice after 62 days of daily intraperitoneal administration of Phosphatidylcholine (ФХ), *PalGly* and *Pal-5-ALA*, g (M ± m)

Препарат и вводимая доза	Сердце	Легкие	Печень	Селезенка	Почки	Надпочечники	Тимус
Контроль (интактные животные)	0,085 ± 0,004	0,160 ± 0,021	0,815 ± 0,044	0,069 ± 0,008	0,166 ± 0,017	0,006 ± 0,001	0,026 ± 0,004
ФХ	0,070 ± 0,007	0,119 ± 0,016	0,655 ± 0,096	0,063 ± 0,014	0,154 ± 0,016	0,006 ± 0,001	0,009 ± 0,001*
<i>PalGly</i> , мкмоль/кг:							
7,5	0,071 ± 0,006	0,135 ± 0,012	0,736 ± 0,065	0,086 ± 0,013	0,149 ± 0,007	0,007 ± 0,001	0,021 ± 0,005
37,5	0,088 ± 0,010	0,110 ± 0,012	0,986 ± 0,103*	0,118 ± 0,028	0,180 ± 0,015	0,005 ± 0,000	0,022 ± 0,005
75	0,075 ± 0,006	0,132 ± 0,013	0,968 ± 0,060#	0,110 ± 0,010*#	0,186 ± 0,011	0,004 ± 0,001	0,026 ± 0,005
<i>Pal-5-ALA</i> , мкмоль/кг:							
7,5	0,069 ± 0,005*	0,121 ± 0,008	0,718 ± 0,049	0,070 ± 0,007	0,146 ± 0,010	0,005 ± 0,001	0,017 ± 0,002
37,5	0,078 ± 0,005	0,125 ± 0,010	0,877 ± 0,061	0,094 ± 0,009*	0,183 ± 0,012	0,005 ± 0,001	0,027 ± 0,004
75	0,084 ± 0,011	0,206 ± 0,091	0,838 ± 0,071	0,114 ± 0,018	0,161 ± 0,013	0,004 ± 0,000	0,022 ± 0,003#

Т а б л и ц а 5. Массовые коэффициенты внутренних органов мышей-самцов после 62 сут ежедневного внутривентриального введения ФХ, *PalGly* и *Pal-5-ALA*, % (M ± m)

Т а б л и ц а 6. Массовые коэффициенты внутренних органов мышей-самцов после 62 сут ежедневного внутривентриального введения ФХ, *PalGly* и *Pal-5-ALA*, % (M ± m)

Препарат и вводимая доза	Сердце	Легкие	Печень	Селезенка	Почки	Надпочечники	Тимус
Контроль (интактные животные)	0,482 ± 0,017	0,725 ± 0,081	5,181 ± 0,178	0,426 ± 0,065	1,077 ± 0,036	0,021 ± 0,003	0,142 ± 0,011
ФХ	0,478 ± 0,025	0,719 ± 0,057	5,088 ± 0,371	0,625 ± 0,101*	1,118 ± 0,061	0,039 ± 0,009	0,142 ± 0,027
<i>PalGly</i> , мкмоль/кг:							
7,5	0,448 ± 0,016	0,861 ± 0,130	5,214 ± 0,142	0,595 ± 0,081*	0,998 ± 0,026	0,036 ± 0,004*	0,072 ± 0,006*
37,5	0,442 ± 0,022	0,696 ± 0,046	5,452 ± 0,190	0,540 ± 0,075	1,176 ± 0,044	0,042 ± 0,008*	0,130 ± 0,031
75	0,482 ± 0,022	0,844 ± 0,055	5,516 ± 0,203	0,664 ± 0,043*	1,054 ± 0,026	0,031 ± 0,004*	0,100 ± 0,015
<i>Pal-5-ALA</i> , мкмоль/кг:							
7,5	0,379 ± 0,018*	0,661 ± 0,054	4,856 ± 0,158	0,443 ± 0,036	0,989 ± 0,059*	0,032 ± 0,003*	0,099 ± 0,015*
37,5	0,427 ± 0,022*	0,696 ± 0,054	4,437 ± 0,144*	0,307 ± 0,022	0,973 ± 0,075*	0,033 ± 0,004*	0,122 ± 0,022
75	0,411 ± 0,012#	0,779 ± 0,053	4,764 ± 0,246	0,490 ± 0,031	1,073 ± 0,033	0,032 ± 0,003*	0,108 ± 0,014*

Т а б л и ц а 6. Массовые коэффициенты внутренних органов мышей-самок после 62 сут ежедневного внутривентриального введения ФХ, *PalGly* и *Pal-5-ALA*, % (M ± m)

Т а б л и ц а 7. Массовые коэффициенты внутренних органов самок после 62 сут ежедневного внутривентриального введения ФХ, *PalGly* и *Pal-5-ALA*, % (M ± m)

Препарат и вводимая доза	Сердце	Легкие	Печень	Селезенка	Почки	Надпочечники	Тимус
Контроль (интактные животные)	0,487 ± 0,020	0,912 ± 0,104	4,640 ± 0,195	0,391 ± 0,042	0,932 ± 0,069	0,034 ± 0,004	0,149 ± 0,018
ФХ	0,461 ± 0,036	0,771 ± 0,059	4,233 ± 0,443	0,406 ± 0,086	1,002 ± 0,047	0,037 ± 0,005	0,060 ± 0,009*
<i>PalGly</i> , мкмоль/кг:							
7,5	0,434 ± 0,035	0,822 ± 0,062	4,479 ± 0,324	0,507 ± 0,055	0,915 ± 0,040	0,041 ± 0,006	0,127 ± 0,028
37,5	0,476 ± 0,045	0,592 ± 0,052*	5,187 ± 0,218	0,590 ± 0,121	0,975 ± 0,069	0,027 ± 0,002	0,119 ± 0,027
75	0,385 ± 0,016*	0,676 ± 0,035	5,014 ± 0,175	0,577 ± 0,051*	0,961 ± 0,030	0,024 ± 0,005	0,125 ± 0,022
<i>Pal-5-ALA</i> , мкмоль/кг:							
7,5	0,428 ± 0,015*	0,759 ± 0,040	4,432 ± 0,087	0,432 ± 0,039	0,900 ± 0,020	0,029 ± 0,003	0,105 ± 0,014
37,5	0,446 ± 0,018	0,717 ± 0,042	5,007 ± 0,123	0,554 ± 0,061*	1,052 ± 0,036*	0,030 ± 0,004	0,150 ± 0,020
75	0,533 ± 0,095	1,315 ± 0,612	5,025 ± 0,204	0,675 ± 0,095*	0,969 ± 0,046	0,027 ± 0,002	0,130 ± 0,017#

повышения МК надпочечников (независимо от дозы,  $p < 0,031$ ) и инволюции тимуса (уменьшения МК на 48 % при дозе 7,5 мкмоль/кг,  $p = 0,00008$ ) сопровождалось также повышением МК селезенки (на 40 % при дозе 7,5 мкмоль/кг,  $p = 0,035$ ; на 56 % при дозе 75 мкмоль/кг,  $p = 0,031$ ) (см. табл. 5). У самок, получавших *PalGly*, зафиксировано снижение МК легких (на 35 % при дозе 37,5 мкмоль/кг,  $p = 0,022$ ), сердца (на 21 % при дозе 75 мкмоль/кг,  $p = 0,001$ ) одновременно с увеличением МК селезенки (на 47 % при дозе 75 мкмоль/кг,  $p = 0,010$ ) (табл. 6). Длительное введение самцам *Pal-5-ALA* приводило к снижению МК сердца (независимо от дозы,  $p < 0,033$ ), печени (на 14 % при дозе 37,5 мкмоль/кг,  $p = 0,002$ ), почек (на 8 % при дозе 7,5 мкмоль/кг,  $p = 0,024$ ; на 10 % при дозе 37,5 мкмоль/кг,  $p = 0,046$ ) и тимуса (на 30 % при дозе 7,5 мкмоль/кг,  $p = 0,031$ ; на 24 % при дозе 75 мкмоль/кг,  $p = 0,020$ ). В то же время МК надпочечников возрастал (независимо от дозы,  $p < 0,038$ ) (см. табл. 5). У самок в результате длительного введения снижались МК сердца (на 12 % при дозе 7,5 мкмоль/кг,  $p = 0,043$ ) и увеличивались МК селезенки (на 42 % при дозе 37,5 мкмоль/кг,  $p = 0,028$ ; на 72 % при дозе 75 мкмоль/кг,  $p = 0,003$ ) и почек (на 13 % при дозе 37,5 мкмоль/кг,  $p = 0,022$ ) (табл. 6).

**Заключение.** В результате проведенных исследований установлено, что хроническая интоксикация мышей *PalGly* и *Pal-5-ALA*, а именно длительное, в течение 62 сут, ежедневное внутрибрюшинное введение препаратов приводит к гибели животных. При этом *Pal-5-ALA* оказался менее токсичным по сравнению с *PalGly*, о чем свидетельствовала более низкая смертность животных.

Количество павших животных не зависело от дозы *PalGly* или *Pal-5-ALA*. Следует отметить, что введение ФХ также сопровождалось летальными эффектами, и это дало основание полагать, что токсическое действие тестируемых субстанций вызвано, как минимум частично, самими липосомами.

Несмотря на отсутствие существенной разницы между числом павших самок и самцов, токсические эффекты *PalGly* и *Pal-5-ALA* характеризовались гендерной зависимостью. Наиболее чувствительными к *PalGly* органами у самцов оказались селезенка, надпочечники и тимус, у самок – печень, селезенка и (в меньшей степени) легкие. Действие *Pal-5-ALA* сказывалось у самцов в основном на сердце, печени, почках, надпочечниках и тимусе, тогда как у самок – на сердце, селезенке, тимусе и (в меньшей степени) на почках. Хроническое ведение ФХ также вызывало гибель отдельных особей, что позволило предположить, что токсическое действие *PalGly* и *Pal-5-ALA* при повторном введении в липосомальной форме обусловлено, как минимум частично, влиянием самих липосом.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Список использованных источников

1. Connor, M. N-acyl amino acids and N-acyl neurotransmitter conjugates: neuromodulators and probes for new drug targets / M. Connor, C. W. Vaughan, R. J. Vandenberg // Brit. J. Pharmacol. – 2010. – Vol. 160, N 8. – P. 1857–1871. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.00862.x>
2. Grabiec, U. N-arachidonoyl dopamine: a novel endocannabinoid and endovanilloid with widespread physiological and pharmacological activities / U. Grabiec, F. Dehghani // Cannabis and Cannabinoid Res. – 2017. – Vol. 2, N 1. – P. 183–196. <https://doi.org/10.1089/can.2017.0015>
3. Оценка антиноцицептивного действия амидов пальмитиновой кислоты / Т. Б. Мелик-Касумов [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2016. – № 4. – С. 25–31.
4. Санитарные правила и нормы 2.1.2.12–18–2006 «Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (вивариев)»: утв. Постановлением Гл. гос. санитар. врача Респ. Беларусь, 31 окт. 2006 г., № 131.
5. Ветеринарно-санитарные правила по приему, уходу и вскрытию подопытных животных в вивариях научно-исследовательских институтов, станциях, лабораториях, учебных заведениях, а также в питомниках: утв. Постановлением М-ва сел. хоз-ва и продовольствия Респ. Беларусь, № 36, 21 мая 2010 г.: с изм. и доп. от 26 окт. 2016 г., № 63 // Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://mshp.gov.by/documents/technical-acts/cb5d27ea51a49bea.html>. – Дата доступа: 07.04.2019.
6. Принципы надлежащей лабораторной практики: ГОСТ 33044-2014. – М.: Стандартинформ, 2015. – 16 с.
7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств: в 2 ч. / редкол.: А. Н. Миронов (председатель) [и др.]. – М.: Гриф и К, 2012. – Ч. 1. – 944 с.
8. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimentation and other scientific purposes, n 123 of 18 march 1986; protocol of amendment to the european convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg, 22 June 1998. – 48 с.
9. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных / Т. В. Абрашова [и др.]; под ред. В. Г. Макарова, М. Н. Макаровой. – СПб.: Лема, 2013. – 116 с.



## References

1. Connor M., Vaughan C. W., Vandenberg R. J. N-acyl amino acids and N-acyl neurotransmitter conjugates: neuromodulators and probes for new drug targets. *British Journal of Pharmacology*, 2010, vol. 160, no. 8, pp. 1857–1871. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.00862.x>
2. Grabiec U., Dehghani F. N-arachidonoyl dopamine: a novel endocannabinoid and endovanilloid with widespread physiological and pharmacological activities. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 2017, vol. 2, no. 1, pp. 183–196. <https://doi.org/10.1089/can.2017.0015>
3. Melik-Kasumov T. B., Pavlyut' T. O., Zhavoronok I. P., Antipova O. A., Pekhtereva E. I., Vasil'kevich A. I., Kisel' M. A., Molchanova A. Yu. Assessment of antinociceptive effects of palmitic acid amides. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2016, no. 4, pp. 25–31 (in Russian).
4. Sanitary rules and norms 2.1.2.12–18–2006 «Device, equipment and maintenance of experimental biological clinics (vivariums)»: approved by the Decree of the Chief State Sanitary Doctor of the Republic of Belarus, No. 131, October 31, 2006. (in Russian).
5. Veterinary-sanitary rules for receiving, care and opening of experimental animals in vivariums of research institutes, stations, laboratories, educational institutions, and also in nurseries: approved by the Resolution of the Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Belarus, N 36, May 21, 2010: with amendments and additions dated October 26, 2016, N 63. *Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Belarus*. Available at: <https://mshp.gov.by/documents/technical-acts/cb5d27ea51a49bea.html> (accessed 07.04.2019) (in Russian).
6. State Standard 33044-2014. *Principles of good laboratory practice*. Moscow, Standartinform Publ., 2015. 16 p. (in Russian).
7. Mironov A. N. (ed.). *A guide to preclinical drug research. Pt. 1*. Moscow, Grif i K Publ., 2012. 944 p. (in Russian).
8. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimentation and other scientific purposes, n 123 of 18 march 1986; protocol of amendment to the european convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*. Strasbourg, 22 June 1998. 48 p.
9. Abrashova T. V., Gushchin Ya. A., Kovaleva M. A., Rybakova A. V., Selezneva A. I., Sokolova A. P., Khod'ko S. V. *Physiological, biochemical and biometric indicators of the rate of experimental animals*. Saint Petersburg, Lema Publ., 2013. 116 p. (in Russian).

## Информация об авторах

*Антипова Ольга Александровна* – мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mayuha@yandex.ru

*Жаворонок Ирина Петровна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: iri8308@yandex.ru

*Павлють Татьяна Олеговна* – науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tanja281286@mail.ru

*Пехтерева Елена Ивановна* – мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: eleivatar@list.ru

*Мелик-Касумов Тигран Бегларович* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник, заведующий лабораторией. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tigranbmk@gmail.com

*Кодаленкова Светлана Александровна* – мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: masyaka00@mail.ru

*Михальчук Александр Леонидович* – канд. хим. наук, вед. науч. сотрудник, зам. заведующего лабораторией. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: lipmal@iboch.bas-net.by

*Кисель Михаил Александрович* – д-р хим. наук, заведующий лабораторией. Институт биоорганической химии НАН Беларуси.

*Молчанова Алла Юрьевна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, заведующий лабораторией. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alla@fizio.bas-net.by

## Information about the authors

*Olga A. Antipova* – Junior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mayuha@yandex.ru

*Irina P. Zhavoronok* – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: iri8308@yandex.ru

*Tatjana O. Pavlut* – Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tanja281286@mail.ru

*Elena I. Pehtereva* – Junior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: eleivatar@list.ru

*Tigran B. Melik-Kasumov* – Ph. D. (Biol.), Leading researcher, Head of the Laboratory. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tigranbmk@gmail.com

*Svetlana A. Kodalenkova* – Junior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: masyaka00@mail.ru

*Aleksandr L. Mihal'chuk* – Ph. D. (Chem.), Leading researcher, Deputy Head of the Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lipmal@iboch.bas-net.by

*Mihail A. Kisel* – D. Sc. (Chem.), Head of the Laboratory.

*Alla Y. Molchanova* – Ph. D. (Biol.), Senior researcher, Head of the Laboratory. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alla@fizio.bas-net.by