

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ ПРЕПАРАТОВ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОГО ТИПА ДЕЙСТВИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОЛОГИЧЕСКОГО ТЕСТ-ОБЪЕКТА — ЗООГИДРОБИОНТОВ *DAPHNIA MAGNA STRAUS*

А.А. Бондаренко^{1,2,*}, Т.Л. Горчакова¹, А.Я. Беспалов¹,
Л.И. Прокопенко¹, П.Д. Шабанов²

¹ ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»
192019, Российская Федерация, Санкт-Петербурге, ул. Бехтерева, 1

² ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»
197376, Российская Федерация, Санкт-Петербурге, ул. Академика Павлова, 12

В работе представлены результаты первичного фармакологического скрининга холиноблокаторов и сравнительная оценка их специфической активности в эквитоксических концентрациях с использованием биологического тест-объекта — зоогидробионтов *Daphnia magna Straus*. Определяли индекс защиты и минимальную эффективную концентрацию по предотвращению атипичной двигательной гиперактивности фармакологических веществ при отравлении обратимым ингибитором ацетилхолинэстеразы. На основании представленных результатов в перечень перспективных кандидатов для дальнейшего исследования на теплокровных животных попали все холиноблокаторы, отобранные ранее в экспериментах на млекопитающих.

Ключевые слова: холинергические препараты, холиноблокаторы, обратимые ингибиторы ацетилхолинэстеразы, фармакологический скрининг, первичные тест-объекты, *Daphnia magna Straus*

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Бондаренко А.А., Горчакова Т.Л., Беспалов А.Я., Прокопенко Л.И., Шабанов П.Д. Фармакологический скрининг препаратов холинергического типа действия с использованием биологического тест-объекта — зоогидробионтов *Daphnia magna Straus*. *Биомедицина*. 2024;20(1): 43–51. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-1-43-51>

Поступила 29.09.2023

Принята после доработки 20.02.2024

Опубликована 10.03.2024

PHARMACOLOGICAL SCREENING OF CHOLINERGIC DRUGS USING *DAPHNIA MAGNA STRAUS* HYDROBIONTS AS A BIOLOGICAL TEST OBJECT

Anastasiya A. Bondarenko^{1,2,*}, Tat'jana L. Gorchakova¹, Aleksandr Ya. Bepalov¹,
Ljubov' I. Prokopenko¹, Petr D. Shabanov²

¹ Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
192019, Russian Federation, Saint Petersburg, Behtereve Str., 1

² Institute of Experimental Medicine
197376, Russian Federation, Saint Petersburg, Akademika Pavlova Str., 12

This work presents the results of primary pharmacological screening of anticholinergic drugs and comparative evaluation of their specific activity in equitoxic concentrations using *Daphnia magna Straus* hydro-

bionts as a biological test object. We determine the protective index and the minimum effective concentration in terms of preventing atypical motor hyperactivity of pharmacological substances when poisoning with a reversible acetylcholinesterase inhibitor. On the basis of the results obtained, the list of promising candidates for further research in warm-blooded animals is extended by all of the anticholinergic drugs previously selected in experiments on mammals.

Keywords: cholinergic drugs, anticholinergic drugs, reversible acetylcholinesterase inhibitors, pharmacological screening, primary test objects, *Daphnia magna Straus*

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Bondarenko A.A., Gorchakova T.L., Bespalov A.Ya., Prokopenko L.I., Shabanov P.D. Pharmacological Screening of Cholinergic Drugs Using *Daphnia magna Straus* Hydrobionts as a Biological Test Object. *Journal Biomed.* 2024;20(1):43–51. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-1-43-51>

Submitted 29.09.2023

Revised 20.02.2024

Published 10.03.2024

Введение

Фармакологический скрининг заключается в экспериментальном выявлении фармакологической активности препаратов с помощью чувствительных методов *in vitro* или *in vivo* (в т.ч. с использованием первичных тест-систем). При целенаправленном поиске соединений осуществляют скрининг с применением строго определённого набора тестов для оценки каждого класса веществ. Выбор тест-системы для скрининга производят исходя из предполагаемой фармакологической активности вещества. Для первичного скрининга фармакологических веществ холинергического типа действия можно использовать зоогидробиев *Daphnia magna Straus* благодаря наличию у них холинергической медиаторной системы и холинорецепторов [16, 18]. С помощью такого отбора сокращается количество используемых теплокровных животных в экспериментальных исследованиях, что оправдано с биоэтической и экономической точек зрения [2, 21].

В настоящее время в экотоксикологических исследованиях с использованием дафний, как правило, применяются тесты по определению токсичности химических веществ, основанные на летальности или угнетении репродуктивной функции [4, 5]. Детальный анализ строения и биоло-

гических функций дафний позволяет различать их физиологические тест-функции, такие как: скорость плавания, пройденное расстояние, частота прыжков, частота сердечных сокращений, частота приёма пищи и потребление кислорода, что также может быть полезно при оценке токсических эффектов [25]. Кроме того, эффекты тестируемых препаратов на дафний можно оценить с помощью ферментативных (холинэстераза, каталаза, супероксиддисмутаза и др.) и неферментативных (глюкоза, аминокислоты, липиды) биомаркеров [22, 23].

Преимущество поведенческих, физиологических и биохимических параметров заключается в возможности наблюдать сублетальные эффекты, вызванные более низкими концентрациями фармакологических веществ, которые невозможно полностью оценить с помощью тестов острой и хронической токсичности.

Активность плавания является чувствительным биомаркером воздействия химических веществ на дафний, который легко наблюдать во время тестов. Этот параметр включает в себя гиперактивность, нормальную активность, угнетение активности, отсутствие способности плавать и неподвижность [23]. Т.к. у дафний поведенческие реакции контролируются нервной системой, воздействие нейротропных веществ приво-

дит к изменению плавательной активности. Следовательно, эти зоогидробионты могут быть использованы в качестве биологической модели для проверки эффективности нейротропных препаратов [25].

Дополнительные преимущества дафний для биотестирования также заключаются в удобстве их разведения в лабораторных условиях, генетической однородности синхронизированной культуры, коротком жизненном цикле и высокой чувствительности ко многим химическим веществам.

Наличие изученной холинергической медиаторной системы, а также одинаковое сродство холинорецепторов дафний и млекопитающих к неселективным холиноблокаторам (ХБ) позволяет производить первичный отбор препаратов холинергического типа действия на зоогидробионтах *Daphnia magna Straus* [16, 18]. При отравлении дафний холинергическими агонистами защитное действие оказывают их антагонисты [19, 20]. Под воздействием обратимых ингибиторов ацетилхолинэстеразы (ОИ АХЭ) у дафний возникает атипичная двигательная гиперактивность, эквивалентная выраженному судорожному состоянию у теплокровных животных, что позволяет проводить первичный отбор потенциальных противосудорожных препаратов по критерию предотвращения наступления атипичной двигательной гиперактивности (АДГА) [3, 7, 12, 24].

При исследовании новых препаратов также имеет значение тот факт, что для экспериментов на дафниях требуется меньшее количество тестируемого вещества.

Целью настоящей работы являлся первичный фармакологический скрининг с использованием биологического тест-объекта — зоогидробионтов *Daphnia magna Straus* для веществ холиноблокирующего типа действия и сравнительная оценка их специфической активности в эквитоксических концентрациях.

Материалы и методы

Эксперименты были поставлены на зоогидробионтах *Daphnia magna Straus*, выращенных в лабораторных условиях в ФГБУ «НКЦГ им. С.Н. Голикова ФМБА России» в соответствии с требованиями международного стандарта по биотестированию воды [4]. В опытах использовалась синхронизированная культура дафний в возрасте 7 сут.

Биотестирование проводили в климатостате Р-2 (ООО «СФУ-Система», Россия) при температуре $20 \pm 1,0^\circ\text{C}$ в лабораторных стаканчиках объёмом 20 мл. Стаканчики заполняли исследуемыми растворами. В каждую пробу помещали по 4 дафнии в возрасте 7 сут. Дафний отлавливали по одной особи автоматической пипеткой объёмом $0,1 \text{ см}^3$ из ёмкости с синхронизированной культурой. Внесённую вместе с дафниями воду в объёме $0,4 \text{ см}^3$ учитывали при приготовлении разбавлений. Стаканчики с дафниями помещали в климатостат. В ходе эксперимента дафний не кормили.

Для определения эффективной концентрации по предотвращению АДГА навеску тестируемого вещества растворяли в культивационной воде и разбавляли культивационной водой до получения растворов с необходимой концентрацией. На первом этапе определяли порядок действующих концентраций, для этого приготавливали разведения в 10, 100, 1000 и т.д. раз, начиная с $\frac{1}{2} \text{ ЛК}_{50}$ (среднелетальная концентрация) тестируемого вещества. ЛК_{50} исследуемых фармакологических веществ были определены в предыдущем исследовании [12].

Далее в отобранном диапазоне концентраций приготавливали 4–6 разбавлений ХБ с интервалом 0,1 по логарифмической шкале (по 3 параллельные пробы на каждую концентрацию). Виалы заполняли 9 мл исследуемых растворов и помещали в каждую по 4 дафнии. Через 1 ч в каждую ёмкость добавляли по 1 мл обратимого ингибитора (ОИ) в концентрации, способной вызывать развитие АДГА у 100% зоогидробионтов

с минимальным процентом летальности. Для ОИ-8 эта концентрация составляла 1,3 мг/л [12]. В качестве контроля использовали 3 параллельные пробы с р-ром ОИ без добавления ХБ.

Через 24 и 48 ч в каждой пробе определяли количество выживших дафний и визуально фиксировали у них наличие или отсутствие АДГА. Минимальную эффективную концентрацию по предотвращению АДГА ($ЭК_{99}$) тестируемых холиноблокаторов рассчитывали методом пробит-анализа. Затем определяли величину отношения $ЛК_{50}$ к $ЭК_{99}$, которая характеризует «терапевтический» интервал действия препаратов и позволяет проводить сравнение их активности. Каждый эксперимент повторяли трижды.

Для определения ИЗ приготавливали р-р холиноблокатора в концентрации 1/10 $ЛК_{50}$. Виалы заполняли 1 мл исследуемого р-ра и помещали в них по 4 дафнии. Через 1 ч в каждую ёмкость добавляли по 9 мл р-ра ОИ в 5–10 концентрациях, возрастающих по логарифмической шкале, по 3 параллельные пробы на каждую концентрацию. В качестве контроля использовали р-ры ОИ без добавления ХБ, по 3 параллельные пробы на каждую концентрацию.

Через 24 и 48 ч в каждой пробе отмечали число погибших и выживших дафний и определяли $ЛК_{50}$ методом пробит-анализа с использованием таблиц, предложенных В.Б. Прозоровским [17]. Отношение величин $ЛК_{50}$ обратимого ингибитора в присутствии и отсутствии тестируемого холиноблокатора определяет его индекс защиты (ИЗ). Каждый эксперимент повторяли трижды.

Результаты и их обсуждение

В табл. 1 представлены результаты эксперимента по определению значения минимальной эффективной концентрации по предотвращению АДГА холиноблокаторов ($ЭК_{99}$) при отравлении модельным холинотиметиком, который был отобран

по результатам предыдущего исследования — ОИ-8 [12].

В соответствии с литературными данными и нашими экспериментальными наблюдениями при нахождении в водной среде в присутствии обратимого ингибитора ацетилхолинэстеразы у дафний развивается состояние атипичной двигательной гиперактивности, выражающееся в виде хаотичных перемещений и резких подергиваний и эквивалентное выраженному судорожному состоянию у теплокровных животных. Профилактическое внесение в среду препаратов с предположительным «противосудорожным» действием способно предотвратить развитие АДГА у дафний. Сравнение активности тестируемых препаратов проводили с неселективным М-холиноблокатором атропином, который является общепринятым антидотом при отравлении карбатами [8].

Ранее было показано, что неселективный М-ХБ — глипин обладает самой высокой константой сродства к М-холинорецепторам ($6,9 \times 10^{-10}$ – $8,7 \times 10^{-10}$ М), которая почти на порядок выше, чем у атропина [6, 13–15]. В эксперименте по предотвращению наступления АДГА он проявил самую высокую активность среди всех обследованных препаратов. При этом только у глипина длительность эффекта продолжалась также на вторые сутки.

Карамифен, обладающий М-холиноблокирующим и NMDA-блокирующим действием, также превосходил атропин по «противосудорожной» активности, что подтверждается в экспериментах на теплокровных животных при моделировании тяжелого отравления фенилкарбаматом [9].

Препарат бенактизин — центральный М-ХБ — входил в состав первого советского антидота фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ) — сафолен [10]. В исследовании на дафниях он предотвращал наступление АДГА практически в два раза эффективнее, чем препарат сравнения атропин.

Таблица 1. Результаты определения ЭК₉₉ холиноблокаторов при отравлении ОИ-8, экспозиция 24 ч
Table 1. Determination of EC₉₉ of anticholinergic drugs with OI-8 poisoning, exposure 24 h

Препарат	ЛК ₅₀ , мг/л (M±m)	ЭК ₉₉ , мг/л (M±m)	ЛК ₅₀ / ЭК ₉₉
Глипин гидрохлорид	36,3±13,0	0,021±0,0047	1728,6
8-Methyl-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-yl cyclopentyl (hydroxy) phenylacetate	97,7±18,1	0,42±0,093	232,6
Карамифен	181,3±47,3	0,84±0,19	215,8
Бенактизин (Амизил)	776,0±144,0	8,38±1,86	92,6
(4-Benzhydryloxy-but-2-ynyl)-diethyl-amine	18,1±4,7	0,21±0,05	86,2
Атропин	144,0±51,0	2,65±0,59	54,3
Амедин	105,5±23,4	2,10±0,47	50,2
Циклозил гидрохлорид	159,5±46,7	3,33±0,74	47,9
Хлорозил	464,0±172,0	10,55±2,34	44,0
Пентифин гидрохлорид	9,1±0,2	0,21±0,05	43,3
Диферидин гидрохлорид	362,0±94,0	12,1±2,10	29,9
Апрофен гидрохлорид	79,9±24,4	4,2±0,93	19,0
1-Cyclopentyl-1-phenyl-4-(1-pyrrolidinyl)-2-butyn-1-ol	36,2±9,4	4,2±0,93	8,6
Трибутам гидрохлорид	721,0±188,0	96,52±21,90	7,5
Педифен гидрохлорид	8,0±0,3	1,67±0,37	4,8

Примечание: ЛК₅₀ — среднелетальная концентрация; ЭК₉₉ — минимальная эффективная концентрация по предотвращению АДГА; ЛК₅₀/ЭК₉₉ — «терапевтический» интервал действия препаратов. Концентрации определены методом пробит-анализа.

Note: ЛК₅₀ — median lethal concentration; ЭК₉₉ — minimum effective concentration by AMHA prevention; ЛК₅₀/ЭК₉₉ — “therapeutic” drug action interval. Concentrations were determined by the method of probit analysis.

Таблица 2. Результаты определения индекса защиты холиноблокаторов при отравлении ОИ-8 (ЛК₅₀ = 7,1±2,3 мг/л), экспозиция 24 ч
Table 2. Determination of the protective index of anticholinergic drugs with OI-8 poisoning (LC₅₀ = 7.1±2.3 mg/l), exposure 24h

Препарат	ЛК ₅₀ опыт, мг/л (M±m)	ИЗ /ЛК ₅₀ контроль
Глипин гидрохлорид	56,8±18,2	8,0
(4-Benzhydryloxy-but-2-ynyl)-diethyl-amine	42,6±12,8	6,0
Атропин	34,8±9,7	4,9
Пентифин гидрохлорид	27,0±8,4	3,8
Амедин	14,0±4,5	2,0
Апрофен гидрохлорид	14,5±4,2	2,0
1-Cyclopentyl-1-phenyl-4-(1-pyrrolidinyl)-2-butyn-1-ol	14,0±4,4	2,0
Карамифен	14,2±4,1	2,0
Педифен гидрохлорид	13,9±4,2	2,0
Трибутам гидрохлорид	14,0±4,0	2,0
Хлорозил	14,5±4,6	2,0
Диферидин гидрохлорид	7,4±2,2	1,0
Циклозил гидрохлорид	7,9±2,1	1,0
Бенактизин (Амизил)	6,3±2,0	<1,0
8-Methyl-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-yl cyclopentyl (hydroxy) phenylacetate	4,7±1,5	<1,0

Примечание: ЛК₅₀ опыт — среднелетальная концентрация ОИ в присутствии тестируемого ХБ; ИЗ — индекс защиты. Концентрации определяли методом пробит-анализа.

Note: ЛК₅₀ опыт — median lethal concentration of OI in the presence of the tested AD; ИЗ — protective index. Concentrations were determined by the method of probit analysis.

Центральные М-ХБ амедин, циклозил, пентифин и периферический М-ХБ хлорозил по «противосудорожной» активности на дафниях сопоставимы с атропином. Эти препараты также входили в состав разработанных ранее антидотов ФОВ [1, 11].

В табл. 2 представлены результаты определения индекса защиты холиноблокаторов при отравлении ОИ-8.

Представленные результаты свидетельствуют, что два препарата из четырнадцати — глипин и (4-Benzhydryloxy-but-2-ynyl)-diethyl-amine — имеют ИЗ выше, чем у атропина. Защитный эффект пентифина сопоставим с действием атропина. Препараты амедин, апрофен гидрохлорид, 1-Cyclopentyl-1-phenyl-4-(1-pyrrolidinyl)-2-butyn-1-ol, карамифен, педифен гидрохлорид, трибутам гидрохлорид и хлорозил в эквитоксических концентрациях оказывают одинаковое защитное действие, которое в 2–2,5 раза меньше, чем у атропина. Холиноблокаторы бенактизин и 8-Methyl-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-yl cyclopentyl (hydroxy) phenylacetate защитного действия при отравлении обратимым ингибитором не оказывают.

Выводы

Защитное действие М-ХБ при отравлении антихолинэстеразными веществами зависит от их способности блокировать постсинаптические М-холинорецепторы. Ранее было показано, что неселективный М-ХБ глипин обладает самой высокой константой сродства к М-холинорецепторам, которая почти на порядок выше, чем у атропина, а сродство к М-холинорецепторам пентифина сопоставимо с атропином.

Из представленных в табл. 1 и 2 данных следует, что глипин имеет максимальный индекс защиты при отравлении обратимым ингибитором ОИ-8 и проявляет макси-

мальную активность по предотвращению АДГА. При этом эффективность пентифина в проводимых тестах сопоставима с атропином. Эффект препаратов в тесте по предотвращению наступления АДГА определяется взаимодействием нескольких медиаторных систем, что объясняет отсутствие корреляционной зависимости между защитным и «противосудорожным» действием. Препараты мультитаргетного типа действия, такие как М-холино- и NMDA-блокатор карамифен, могут быть достаточно эффективны в тесте предупреждения АДГА у дафний и слабо эффективны при защите зооигробионтов от гибели. Очевидно, для предотвращения необоснованного исключения перспективных препаратов при проведении первичного фармакологического скрининга холиноблокаторов следует проводить оба теста: по предупреждению АДГА и предотвращению гибели дафний.

На основании представленных результатов в перечень перспективных кандидатов для исследования на теплокровных, специфическая активность которых сопоставима или превосходит эффект атропина, попали все отобранные ранее в экспериментах на животных ХБ. Интерес для дальнейшего исследования специфической активности на млекопитающих представляет ацетиленовое производное, препарат (4-Benzhydryloxy-but-2-ynyl)-diethyl-amine, защитное и «противосудорожное» действие которого превосходит эффекты атропина. Этот ХБ, в отличие от остальных обследованных препаратов, оказывает защитное действие и на вторые сутки наблюдения.

Проведённое исследование подтверждает правомерность и перспективность первичного фармакологического отбора препаратов холинергического типа действия на зооигробионтах *Daphnia magna Straus*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Александрова М.Л., Баринов В.А., Бонитенко Е.Ю., Глушков Р.К., Долго-Сабуров В.Б., Журкович И.К., Зайцева М.А., Зацепин Э.В., Иваненко Н.Б., Иванов М.Б., Игнатъев Ю.А., Кашуро В.А., Лапина Н.В., Мелихова М.В., Муковский Л.А., Нечипоренко С.П., Носов А.В., Петров А.Н., Рутковский Г.В., Саватеева-Любимова Т.Н., Семёнов Е.В., Сибиряков В.К., Сомин И.Н., Стройкова Г.С., Томилин Н.В., Шабанова И.А., Шестова Г.В. *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт токсикологии. 80 лет. под ред. С.П. Нечипоренко, Е.Ю. Бонитенко, А.Н. Петрова.* СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2015:176. [Aleksandrova M.L., Barinov V.A., Bonitenko E.Ju., Glushkov R.K., Dolgo-Saburov V.B., Zhurkovich I.K., Zajceva M.A., Zacepin Je.V., Ivanenko N.B., Ivanov M.B., Ignat'ev Ju.A., Kashuro V.A., Lapina N.V., Melihova M.V., Mukovskij L.A., Nechiporenko S.P., Nosov A.V., Petrov A.N., Rutkovskij G.V., Savateeva-Ljubimova T.N., Semjonov E.V., Sibirjakov V.K., Somin I.N., Strojкова G.S., Tomilin N.V., Shabanova I.A., Shestova G.V. *Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe uchrezhdenie nauki Institut toksikologii. 80 let [Federal state budgetary institution of science Institute of toxicology. 80 years old].* Ed. by S.P. Nechiporenko, E.Ju. Bonitenko, A.N. Petrov. Saint-Petersburg: JeLBI-SPb Publ., 2015:176. (In Russian)].
2. Большаков О.П., Незнанов Н.Г., Бабаханян Р.В. Дидактические и этические аспекты проведения исследований на биомоделях и на лабораторных животных. *Качественная клиническая практика.* 2002;1:58-61. [Bol'shakov O.P., Neznanov N.G., Babahanjan R.V. Didakticheskie i jeticheskie aspekty provedenija issledovanij na biomodeljah i na laboratornyh zhivotnyh [Didactic and ethical aspects of conducting research on biomodels and laboratory animals] *Kachestvennaja klinicheskaja praktika [Good Clinical Practice].* 2002;1. (In Russian)].
3. Бондаренко А.А., Подосиновичева Н.П., Зайцева М.А., Мелехова А.С., Мельникова М.В., Бельская А.В., Лисицкий Д.С., Верведа А.Б., Вихарев Ю.Б. Первичный скрининг противосудорожных препаратов с использованием зоогидробийонтов *Daphnia magna* Straus. *Мат-лы научно-практической конференции «Актуальные вопросы токсикологии и фармакологии».* СПб., 2019:114–117. [Bondarenko A.A., Podosinovicova N.P., Zajceva M.A., Melehova A.S., Mel'nikova M.V., Bel'skaja A.V., Lisickij D.S., Verveđa A.B., Viharev Ju.B. Pervichnyj skringing protivosudorozhnyh preparatov s ispol'zovaniem zoogidrobiontov *Daphnia magna* Straus [Primary screening of anticonvulsants using *Daphnia magna* Straus zoohydrobionts] *Mat-ly nauchno-prakticheskoy konferencii "Aktual'nye voprosy toksikologii i farmakologii"* ["Current Issues of Toxicology and Pharmacology"]. Saint-Petersburg, 2019:114–117. (In Russian)].
4. ГОСТ 32536-2013 «Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Определение острой токсичности для дафний». М., 2014. [GOST 32536-2013 "Metody ispytanj himicheskoj produkcii, predstavljajushhej opasnost' dlja okruzhajushhej sredy. Opredelenie ostroj toksichnosti dlja dafnij" ["Testing of chemicals of environmental hazard. *Daphnia* sp. Acute Immobilisation test"]. Moscow, 2014. (In Russian)].
5. ГОСТ 32367-2013 «Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Угнетение репродуктивной способности Дафнии магна». М., 2014. [GOST 32367-2013 "Metody ispytanj himicheskoj produkcii, predstavljajushhej opasnost' dlja okruzhajushhej sredy. Ugnetenie reproduktivnoj sposobnosti Dafnii magna" ["Testing of chemicals of environmental hazard. *Daphnia magna* reproduction test"]. Moscow, 2014. (In Russian)].
6. Долго-Сабуров В.Б., Подосиновичева Н.П., Санковский А.А. Некоторые механизмы регуляции синтеза и секреции ацетилхолина в холинергических терминалах мозга. *Нейрохимия.* 1992;11(1):3–9. [Dolgo-Saburov V.B., Podosinovicova N.P., Sankovskij A.A. Nekotorye mehanizmy reguljacii sinteza i sekrecii acetylholina v holinerghicheskikh terminaljah mozga [Some mechanisms of regulation of the synthesis and secretion of acetylcholine in the cholinergic terminals of the brain]. *Nejrohimiya [Neurochemistry].* 1992;11(1):3–9. (In Russian)].
7. Кулагина К.В. Использование биопараметров *Daphnia magna* Straus для оценки действия пестицидов. Дисс. ... канд. биол. наук. Ульяновск, 2011:164. [Kulagina K.V. *Ispol'zovanie bioparametrov Daphnia magna Straus dlja ocenki dejstvia pesticidov* [Using bioparameters of *Daphnia magna* Straus to evaluate pesticide effects]. Diss. ... kand. biol. nauk [PhD thesis of Cand. Sci. (Biol.)]. Ul'janovsk, 2011:164. (In Russian)].
8. Лудевиг Р., Лос К. *Острые отравления.* М.: Медицина, 1983:560. [Ludevig R., Los K. *Ostrye otravlenija [Acute poisonings].* Moscow: Medicina Publ., 1983:560. (In Russian)].
9. Мелехова А.С., Петров А.Н., Беспалов А.Я., Бельская А.В., Мельникова М.В., Зацепин Э.П., Шестова Г.В., Ганеев А.А. Экспериментальная фармакотерапия судорожного синдрома при моделировании тяжёлого отравления карбаматом. *Medline.ru. Российский биомедицинский журнал.* 2019;20(2):294–306. [Melehova A.S., Petrov A.N., Bepalov A.Ja., Bel'skaja A.V., Mel'nikova M.V., Zacepin Je.P., Shestova G.V., Ganeev A.A. Jeksperimental'naja farmakoterapija sudorozhnogo sindroma pri modelirovanii tjazhelogo otravlenija karbamatom [Experimental pharmacotherapy of convulsive syndrome in the simulation of severe carbamate poisoning]. *Medline.ru. Russian biomedical journal.* 2019;20(2):294–306. (In Russian)].

10. Нечипоренко С.П., Баринов В.А., Петров А.Н. Роль антидотов в лечении острых отравлений (прошлое и настоящее). *Токсикологический вестник*. 2011;111(6):38–42. [Nechiporenko S.P., Barinov V.A., Petrov A.N. Rol' antidotov v lechenii ostryh otravlenij (proshloe i nastojashhee) [The role of antidotes in the treatment of acute poisoning (past and present)]. *Toksikologicheskij vestnik [Toxicology Bulletin]*. 2011;111(6):38–42. (In Russian)].
11. Нечипоренко С.П., Бонитенко Ю.Ю., Петров А.Н., Бонитенко Е.Ю. Фармакологическая профилактика и терапия поражений ФОС. *Бюллетень восточно-сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2009;65(1):176–181. [Nechiporenko S.P., Bonitenko Ju.Ju., Petrov A.N., Bonitenko E.Ju. Farmakologicheskaja profilaktika i terapija porazhenij FOS [Phosphororganic compounds injury: pharmacological therapy and profilaxis]. *Bjulleten' vostochno-sibirskogo otdelenija Rossijskoj akademii medicinskih nauk [Bulletin of the East Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences]*. 2009;65(1):176–181. (In Russian)].
12. Подосиновикова Н.П., Александрова М.Л., Бондаренко А.А., Горчакова Т.Л., Беспалов А.Я., Ватаева А.А., Мастерова К.В., Журкович И.К. Скрининг холинэргических фармакологических веществ на биологических тест-объектах — зоогидробонтах *Daphnia magna Straus*. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2022;85(5):3–9. [Podosinovicova N.P., Aleksandrova M.L., Bondarenko A.A., Gorchakova T.L., Bepalov A.Ja., Vataeva A.A., Masterova K.V., Zhurkovich I.K. Skringing holinegicheskikh farmakologicheskikh veshchestv na biologicheskikh test-ob'ektah — zoogidrobionтах *Daphnia magna Straus*. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2022;85(5):3–9. (In Russian)].
13. Подосиновикова Н.П., Горобец Л.Ф., Долго-Сабуров В.Б. Типовая принадлежность пресинаптических М-холинорецепторов различных отделов мозга крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1996;122(7):75. [Podosinovicova N.P., Gorobec L.F., Dolgo-Saburov V.B. Tipovaja pri-nadlezhnost' presinapticheskikh M-holinoreceptorov razlichnyh otdelov mozga krysv [Typical affiliation of presynaptic M-cholinergic receptors in different parts of the rat brain]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1996;122(7):75. (In Russian)].
14. Подосиновикова Н.П., Космачев А.Б., Долго-Сабуров В.Б., Соловьева Н.Е. Использование радиолигандного анализа для оценки гетерогенности пре- и постсинаптических М-холинорецепторов некоторых отделов мозга крысы. *Нейрохимия*. 1999;16(4):269–272. [Podosinovicova N.P., Kosmachev A.B., Dolgo-Saburov V.B., Solov'eva N.E. Ispol'zovanie radioligandnogo analiza dlja ocenki geterogenosti pre- i postsinapticheskikh M-holinoreceptorov nekotoryh otdelov mozga krysvy [The use of radioligand analysis to assess the heterogeneity of pre- and postsynaptic M-cholinergic receptors in some parts of the rat brain]. *Nejrohimiya [Neurochemistry]*. 1999;16(4):269–272. (In Russian)].
15. Подосиновикова Н.П., Космачев А.Б., Долго-Сабуров В.Б., Соловьева Н.Е. Оценка типовой принадлежности и нейрональной локализации мускариновых рецепторов больших полушарий головного мозга крыс. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2000;5:7–9. [Podosi-novicova N.P., Kosmachev A.B., Dolgo-Saburov V.B., Solov'eva N.E. Ocenka tipovoj pri-nadlezhnosti i nejronal'noj lokalizacii muskarinovyh receptorov bol'shix polusharij golovnogo mozga krysv [Evaluation of type affiliation and neuronal localization of muscarinic receptors in the cerebral hemispheres of rats]. *Experimental and clinical pharmacology*. 2000;5:7–9. (In Russian)].
16. Подосиновикова Н.П., Космачев А.Б., Тонкопий В.Д., Загребин А.О., Евдокимова Е.А., Малов А.М., Петров В.В., Долго-Сабуров В.Б. *Daphnia magna Straus* как объект при исследовании препаратов холинэргического типа действия. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2002;65(1):73–74. [Podosinovicova N.P., Kosmachev A.B., Tonkopij V.D., Zagrebin A.O., Evdokimova E.A., Malov A.M., Petrov V.V., Dolgo-Saburov V.B. *Daphnia magna Straus* как ob'ekt pri issledovanii preparatov holinegicheskogo tipa dejstvija [Daphnia magna Straus as an object in the study of drugs with a cholinergic type of action]. *Experimental and clinical pharmacology*. 2002;65(1):73–74. (In Russian)].
17. Прозоровский В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований. *Психофармакол. биол. наркол*. 2007;7(3–4):2090–2120. [Prozorovskij V.B. Statisticheskaja obrabotka rezul'tatov farmakologicheskikh issledovanij [Statistic processing of data of pharmacological investigations]. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2007;7(3–4):2090–2120. (In Russian)].
18. Тонкопий В.Д., Загребин А.О. Обоснование разработки новых методов биоидентификации антихолинэстеразных соединений в водной среде. *Журнал экол. химии*. 1993;2:133–137. [Tonkopij V.D., Zagrebin A.O. Obosnovanie razrabotki novyh metodov bioidentifikacii antiholinesteraznyh soedinenij v vodnoj srede [Substantiation of the development of new methods for the bioidentification of anticholinesterase compounds in the aquatic environment]. *Zhurnal jekol. himii [Journal of Environmental Chemistry]*. 1993;2:133–137. (In Russian)].
19. Тонкопий В.Д., Космачев А.П., Загребин А.О. Сравнительный фармакологический анализ М-холинорецепторов у дафний и крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1994;102(5):497–499. [Tonkopij V.D., Kosmachev A.P., Zagrebin A.O. Sravnitel'nyj farmakologicheskij analiz M-holinoreceptorov u dafnij i krysv [Comparative pharmacological analysis of M-cholinergic receptors in Daphnia and rats].

- Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1994;102(5):497–499. (In Russian)].
20. Филько О.А., Космачев А.Б., Загребин А.О., Тонкопий В.Д. Возможность использования *Daphnia magna* в качестве альтернативного тест-объекта для оценки рецепторной избирательности холинотропных веществ. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 1999;62(6):23–25. [Fil'ko O.A., Kosmachev A.B., Zagrebin A.O., Tonkopij V.D. *Vozможnost' ispol'zovaniya Daphnia magna v kachestve al'ternativnogo test-ob'ekta dlja ocenki receptornoj izbiratel'nosti holinotropnyh veshhestv* [The possibility of using *Daphnia magna* as an alternative test object for evaluating the receptor selectivity of cholinotropic substances]. *Experimental and clinical pharmacology*. 1999;62(6):23–25. (In Russian)].
21. ATLA Alternatives to laboratory Animals. Third World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences. Bologna, Italy, 1999. Urecht, Programme and Abstracts: 442.
22. Dionisio R., Daniel D., de Alkmin G.D., Nunes B. Multi-parametric analysis of ciprofloxacin toxicity at Ecologically relevant levels: Short- and long-term effects on *Daphnia magna*. *Environmental toxicology and pharmacology*. 2020;74:1–8.
23. Jeong T.Y., Yoon D., Kim S., Kim H.Y., Kim S.D. Mode of action characterization for adverse effect of propranolol in *Daphnia magna* based on behavior and physiology monitoring and metabolite profiling. *Environmental Pollution*. 2018;233:99–108.
24. Ren Z., Zhang X., Wang X., Qi P., Zhang B., Zeng Y., Fu R., Miao M. AChE inhibition: One dominant factor for swimming behavior changes of *Daphnia magna* under DDVP exposure. *Chemosphere*. 2015:252–257.
25. Tkaczyk A., Bownik A., Dudka J., Kowal K., Ślaska B. *Daphnia magna* model in the toxicity assessment of pharmaceuticals: A review. *Science of the Total Environment*. 2021;763:1–18.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Бондаренко Анастасия Александровна*, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России», ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»;
e-mail: bondarenko-nastua@yandex.ru

Anastasiya A. Bondarenko*, Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Institute of Experimental Medicine;
e-mail: bondarenko-nastua@yandex.ru

Горчакова Татьяна Леонидовна, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: albsp2011@yandex.ru

Tat'jana L. Gorchakova, Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: albsp2011@yandex.ru

Беспалов Александр Яковлевич, к.х.н., ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: albsp2011@yandex.ru

Aleksandr Ya. Bupalov, Cand. Sci. (Chem.), Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: albsp2011@yandex.ru

Прокопенко Любовь Ивановна, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России»;
e-mail: albsp2011@yandex.ru

Ljubov' I. Prokopenko, Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: albsp2011@yandex.ru

Шабанов Петр Дмитриевич, д.м.н., проф., ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»;
e-mail: pdshabanov@mail.ru

Petr D. Shabanov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Institute of Experimental Medicine;
e-mail: pdshabanov@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author