

DOI: <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2022.4.89>

Оценка острой токсичности 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)-фенил]бензамида

О.Г. Сечко, В.М. Царенков

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2022. – Том 21, №4. – С. 89-99.

The assessment of acute toxicity of 3-[4-(2-fluorobenzoyl)piperazine-1-carbonyl]-N-[3-(trifluoromethyl)-phenyl]benzamide

O.G. Sechko, V.M. Tsarenkov

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2022;21(4):89-99.

Резюме.

Цель – оценка острой токсичности производного бензамида – 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)-фенил]бензамида при однократном внутрижелудочном введении лабораторным мышам и крысам. Материал и методы. В экспериментах на 48 клинически здоровых мышах обоего пола линии СВА и на 48 клинически здоровых крысах обоего пола линии Вистар проведена оценка острой токсичности. Изучаемое соединение вводили внутрижелудочно в виде водной суспензии в дозах 100 мг/кг, 500 мг/кг и 2000 мг/кг живой массы. Продолжительность наблюдения за картиной интоксикации после введения составляла 14 дней. Определяли изменения в массе тела грызунов, осуществляли вскрытие, проводили макроскопический анализ и определяли массу сердца, печени, легких, селезенки и почек. Класс токсичности исследуемого соединения определяли по значению полуметальной дозы (LD_{50}).

Результаты. Во время эксперимента гибели животных не наблюдалось. Общее состояние всех животных было удовлетворительным. В каждой из опытных групп мышей и крыс на 2, 7 и 14 день эксперимента наблюдалось статистически незначимое увеличение массы тела по сравнению с контрольной группой ($p>0,05$), кроме крыс-самцов группы №2 (доза 500 мг/кг) – у них наблюдалось статистически значимое увеличение массы тела ($p<0,05$). При макроскопическом исследовании не было выявлено отрицательное влияние производного бензамида на внутренние органы.

Заключение. LD_{50} составляет более 2000 мг/кг. Таким образом, производное бензамида является практически нетоксичным соединением – относится к 5-му классу токсичности по модифицированной классификации Организации экономического содействия и развития (ОЭСД) и согласно гармонизированной системе классификации опасности и маркировки химической продукции (GHS) относится к 5-му классу токсичности, т.е. обладает относительно низкой острой токсичностью. LD_{50} производного бензамида значительно выше, чем LD_{50} изониазида (170 мг/кг при внутрижелудочном введении мышам), что характеризует производное бензамида как менее токсичное соединение.

Ключевые слова: противотуберкулезное действие, острая токсичность, производное бензамида, 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)-фенил]бензамид.

Abstract.

Objectives. To evaluate the acute toxicity of a benzamide derivative – 3-[4-(2-fluorobenzoyl)piperazine-1-carbonyl]-N-[3-(trifluoromethyl)-phenyl]benzamide after a single intragastric administration to laboratory mice and rats.

Material and methods. Acute toxicity was assessed in experiments on 48 clinically healthy CBA mice of both sexes and 48 clinically healthy Wistar rats of both sexes. The compound under study was administered intragastrically as an aqueous suspension at doses 100 mg/kg, 500 mg/kg and 2000 mg/kg of body weight. The observation duration of intoxication pattern after administration made up 14 days. Changes in body weight of the rodents were determined, autopsy was performed, macroscopic analysis was made, and the weight of the heart, liver, lungs, spleen, and kidneys was determined.

The toxicity class of the compound under study was determined by the value of half-lethal dose (LD_{50}).

Results. During the experiment, the death of animals was not observed. The general condition of all animals was satisfactory. In each of the experimental groups of mice and rats on days 2, 7 and 14 of the experiment, a statistically insignificant increase in body weight was observed compared to the control group ($p > 0.05$), except for male rats of group №2 (dose 500 mg/kg) – this group had a statistically significant increase in body weight ($p < 0.05$). Macroscopic examination did not reveal any negative effect of the benzamide derivative on the internal organs.

Conclusions. LD_{50} is over 2000 mg/kg. Thus, the benzamide derivative has been assigned to the 5th class of toxicity according to the modified classification of the Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) – almost non-toxic compound and to the 5th class of toxicity according to the Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS) – i.e., it possesses relatively low acute toxicity. The LD_{50} of the benzamide derivative is significantly higher than the LD_{50} of isoniazid (170 mg/kg intragastrically in mice), which characterizes the benzamide derivative as a less toxic compound.

Keywords: anti-tuberculosis activity, acute toxicity, benzamide derivative, 3-[4-(2-fluorobenzoyl)piperazine-1-carbonyl]-N-[3-(trifluoromethyl)-phenyl]benzamide.

Введение

Туберкулез по-прежнему остается инфекционным заболеванием, которое снижает качество жизни и имеет высокие показатели смертности во всем мире [1]. В августе 2021 года 25 препаратов для лечения лекарственно-чувствительно-го туберкулеза и множественного лекарственно-устойчивого туберкулеза находились на I, II и III фазах клинических испытаний согласно данным Глобального отчета Всемирной организации здравоохранения по туберкулезу 2021 года. Причем 16 препаратов из 25 являются новыми химическими соединениями [2]. Всемирной ассамблеей здравоохранения в 2020 году была принята Глобальная стратегия исследований и инноваций в области туберкулеза, которая призывает все члены-государства осуществлять глобальную стратегию исследовательской и инновационной деятельности по проблеме туберкулеза [3, 4]. Поиск новых противотуберкулезных соединений является одним из приоритетных направлений современной фармацевтической разработки. В предыдущих исследованиях нами было установлено, что производное бензамида – 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)-фенил]бензамид в концентрации 200 мкг/мл полностью подавляет рост *Mycobacterium terrae* 15755 в такой же концентрации, как и противотуберкулезное лекарственное средство I ряда рифампицин в условиях эксперимента [5]. Штамм *Mycobacterium terrae* 15755 является непатогенным и рекомендован для использования в качестве модельного для определения противотуберкулезной активности [6]. Кроме того, было

установлено, что производное бензамида *in vitro* полностью подавляет рост лабораторного референс-штамма *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv и клинического штамма *Mycobacterium tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью в концентрации 100 мкг/мл.

Исследования безопасности нового химического соединения являются частью доклинических испытаний. Обязательным этапом исследований безопасности нового потенциального лекарственного вещества является определение его класса токсичности. Знание класса токсичности позволяет определить перспективность последующих исследований и степень опасности соединения.

Цель – оценка острой токсичности производного бензамида – 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)-фенил]бензамида при однократном внутривидовом введении лабораторным мышам и крысам.

Объект исследования – противотуберкулезное соединение – производное бензамида – 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)-фенил]бензамид, синтезированное в Государственном научном учреждении «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси».

Материал и методы

Экспериментальная часть исследования выполнена в виварии научно-исследовательской части (НИЧ) учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» (УО БГМУ). Теоретическая и аналитическая часть исследования выполнена на кафедре фармацевтиче-

ской технологии УО БГМУ. Планирование и дизайн исследования острой токсичности на животных основывались на подходе, который удовлетворяет как научную точку зрения, так и этическую.

При работе с животными придерживались принципов «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» (Страсбург, 1986) и Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года, по охране животных, используемых в научных целях. Исследование проводили согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (2005), по ГОСТ 32644-2014, ГОСТ 32296-2013, ГОСТ 33215-2014 и с учётом требований Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов, которое было утверждено Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26 ноября 2019 года, № 202. Исследование выполнялось согласно письменному протоколу, утвержденному Комитетом по биомедицинской этике УО БГМУ (выписка из протокола заседания комитета по биомедицинской этике УО БГМУ от 16.11.2021, № 5). Эвтаназию животных проводили с соблюдением требований, изложенных в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1997).

Токсикометрию проводили с учетом половозрастных особенностей животных – на 48 клинически здоровых мышах обоего пола массой 20-22 г линии СВА и на 48 клинически здоровых крысах обоего пола массой 200-220 г линии Вистар с хорошими показателями экстерьеря. Грызуны содержались в стандартных условиях вивария при температуре 18-22°C, влажности воздуха 40-45% и принимали стандартный сбалансированный пищевой рацион. Стоит отметить, что крысы линии

Вистар довольно быстро адаптируются к стрессовым ситуациям [7]. В исследование включали животных, которые прошли карантин на протяжении 14 дней. Для оценки острой токсичности сформировали опытные и контрольную группы мышей и крыс (n=6) согласно схеме, указанной в таблице 1.

Для идентификации животных каждой особи была присвоена определенная метка пикриновой кислотой. За сутки до введения суспензии исследуемого соединения животных подвергали пищевой депривации со свободным доступом к воде. По прошествии периода голодания, перед введением необходимой дозировки, животных взвешивали и на основании данных массы тела высчитывали точный объем суспензии, который необходимо ввести. После введения водной суспензии период лишения пищи был продлен еще на 4 часа для крыс и на 2 часа для мышей. Исследуемое соединение вводили однократно внутрижелудочно в виде суспензии в следующих дозировках: 100 мг/кг, 500 мг/кг и 2000 мг/кг живой массы с помощью иглы с булавовидным утолщением. Вследствие плохой растворимости в воде производное бензамида вводили в виде суспензии. Объем вводимой внутрижелудочной водной суспензии рассчитывали исходя из максимально допустимых объемов введения жидкостей для лабораторных животных, в зависимости от массы тела и пути введения. Для мышей объем вводимой внутрижелудочной водной суспензии составлял 0,6 мл на 20,0 г массы тела, для крыс – 4,0 мл на 200,0 г массы тела.

Самок содержали отдельно от самцов. С момента введения исследуемого соединения за животными наблюдали в течение 14 суток. В первые сутки животные находились под непрерывным контролем. Начиная со вторых суток осмотр животных проводили 2 раза в сутки, до завершения опыта. Для оценки картины интоксикации с регулярной периодичностью фиксировали общее

Таблица 1 – Схема внутрижелудочного введения производного бензамида мышам и крысам для определения острой токсичности

№ группы	Доза производного бензамида, мг/кг	
	Мыши	Крысы
1	100	100
2	500	500
3	2000	2000
4 (контроль)	Равный объем воды очищенной	Равный объем воды очищенной

состояние животных, поведенческие реакции, положение тела в пространстве, двигательную активность, нервно-мышечное возбуждение, состояние кожи и шерсти, цвет видимых слизистых оболочек, размер зрачка, аппетит, количество и консистенцию фекальных масс, частоту мочеиспускания, цвет мочи, потребление корма, потребление воды, реакции на раздражители (тактильные, болевые, звуковые и световые), время возникновения и характер интоксикации, ее тяжесть и обратимость. Кроме того, оценивали динамику массы тела – взвешивание животных осуществляли до начала эксперимента, а затем на второй, седьмой и четырнадцатый день. По истечении 14 дней животных подвергли эвтаназии, провели вскрытие животных опытных и контрольной групп, после чего осуществляли визуальный осмотр, макроскопический анализ внутренних органов и определяли массу: сердца, печени, легких, селезенки и почек. Проводили сравнение показателей массы тела и массы внутренних органов опытных и контрольной групп. Данные, полученные на самках и самцах, учитывались и анализировались отдельно.

Статистический анализ полученных экспериментальных данных и построение диаграмм размаха проводили с использованием компьютерной программы «Statistica 10.0» («StatSoft, Inc.», США). Для описания количественного признака в совокупности указаны медиана, нижний (25%) и верхний (75%) квартили в формате Me (Q1-Q3). Для проверки нормальности распределения количественных данных использовали критерии Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова с поправкой Лилиефорса. Для сравнения массы тела животных до начала и по окончании проведения эксперимента использовали непараметрический критерий Уилкоксона. Для сравнения массы тела животных опытных групп с массой тела животных контрольной группы использовали непараметрический ранговый U-критерий Манна-Уитни. Данные о массе внутренних органов анализировали с использованием непараметрического H-критерия Краскела-Уоллиса [8]. Различия считали статистически значимыми с вероятностью не менее 95% ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

За весь период эксперимента и мыши, и крысы были клинически здоровы, признаки токсического действия производного бензамида отсутствовали: общее состояние всех животных было

удовлетворительным, поведение и положение тела в пространстве соответствовали половозрелым особенностям развития. Клиническое состояние грызунов опытных групп не отличалось от состояния животных контрольной группы: все животные охотно поедали корм, реагировали на раздражители извне (тактильные, болевые, звуковые и световые), кал был всегда сформированный, кожный покров у всех животных был целостный, покраснения и алопеции отсутствовали, тургор кожи был в норме. Состояние конъюнктивы глаз, слизистых оболочек носовой и ротовой полости, половых органов и анального отверстия были без видимых повреждений. Отклонений в работе дыхательной системы обнаружено не было.

В ходе осуществления некропсии и извлечения стресс-компетентных органов (сердца, печени, легких, селезенки и почек) и последующего макроскопического анализа не было выявлено нарушений ни в одной из групп исследуемых животных.

Сердце мышей и крыс как опытных, так и контрольной группы имело овоидно-сферическую форму и нормальное кровенаполнение. Верхушка сердца была направлена к грудине, левый желудочек развернут к передней стенке грудной клетки. Поперечная венечная борозда и продольная передняя межжелудочковая борозда были в норме. Правое предсердие было шарообразной формы, кпереди продолжалось полым отростком – ушком. Внутренняя поверхность была неровная за счет гребенчатых мышц. Атриовентрикулярное отверстие с трехстворчатым клапаном, которым правое предсердие сообщается с правым желудочком было в норме. В правое предсердие впадали нижняя и верхняя полая вены. Левое предсердие было шарообразной формы со слепым выпячиванием – левым ушком. Внутренняя поверхность левого предсердия гладкая, неровности были в ушке за счет гребенчатых мышц. Атриовентрикулярное отверстие с двустворчатым клапаном, которым левое предсердие сообщается с левым желудочком, было в норме. Правый желудочек был конусообразной формы с заметно более тонкими стенками чем левый желудочек. В правом желудочке обе области – собственно желудочек и артериальный конус – были в норме. Артериальный конус продолжался легочным стволом, который сообщался с правым желудочком через отверстие легочного ствола с клапаном, представленным тремя полулунными заслонками. Левый желудочек был конической формы с более толстыми стенками

с неровной внутренней поверхностью, что обусловлено большим количеством трабекул. Аортальный клапан, образованный тремя полукруглыми заслонками, препятствующий обратному току крови и способствующий току крови в большой круг кровообращения, был в норме.

Печень мышей и крыс как опытных, так и контрольной группы имела красно-коричневый цвет, округлую форму и имела нормальное кровенаполнение. Большая часть печени находилась в правом подреберье. Все 4 доли печени мышей – левая боковая (самая большая), левая внутренняя, правая боковая с хвостатым отростком и правая внутренняя с сосцевидным отростком и желчный пузырь между левой внутренней и правой внутренней долями – не имели отличий от таковых в контрольной группе. Все 6 долей крыс – левая боковая (самая большая), левая внутренняя, правая внутренняя, правая боковая, хвостовая и добавочная – не имели отличий от таковых в контрольной группе.

Легкие мышей и крыс как опытных, так и контрольной группы были нежно-розового цвета и имели нормальное кровенаполнение. Все 5 долей легких у мышей и крыс опытных групп – 1 доля в левом легком и 4 доли в правом легком (краниальная, медиальная, каудальная и добавочная) – не имели отличий от таковых в контрольной группе.

Селезенка мышей и крыс как опытных, так и контрольной группы имела узкую, плоскую форму и нормальное кровенаполнение. Капсула селезенки была плотная и ровная, без вкраплений и не имела отличий от таковых в контрольной группе.

Почки мышей и крыс как опытных, так и контрольной группы имели бобовидную форму, гладкую поверхность и нормальное кровенаполнение. На сагиттальном срезе были хорошо выражены зоны почки – корковая, промежуточная и мозговая – и не имели отличий от таковых в контрольной группе.

Макроскопическая картина у животных опытных и контрольной группы была идентичной. Шерстяной покров у животных всех групп был опрятным – с блеском, характерным для здоровых животных. Кожа без изменений. При некропсии обращали внимание на расположение внутренних органов – у всех животных оно было правильное. В брюшной и плевральной полостях свободной жидкости не наблюдалось.

При макроскопическом исследовании внутренних органов патологических изменений, вызванных введением производного бензамида, не выявили. При вскрытии просвет трахеи и бронхов был свободен, легкие на разрезе были характерного розового цвета.

Результаты эксперимента на мышах

По данным таблицы 2 видно, что введение производного бензамида в количестве 100 мг/кг, 500 мг/кг и 2000 мг/кг живой массы не вызвало летального исхода мышей.

Динамика массы тела мышей обоего пола опытных групп при введении суспензии производного бензамида в возрастающей концентрации 100 мг/кг, 500 мг/кг и 2000 мг/кг и контрольной группы представлены на рисунке 1.

Установлено статистически значимое увеличение массы тела мышей обоего пола на протяжении эксперимента. Во всех опытных группах и в контрольной группе $p=0,028$ (критерий Уилкоксона). Масса тела мышей на протяжении эксперимента увеличилась следующим образом: у мышей-самцов группы №1 в среднем на 3,3 г; у мышей-самцов группы №2 в среднем на 3,7 г; у мышей-самцов группы №3 в среднем на 3,6 г; у мышей-самцов группы №4 (контрольной) в среднем на 3,7 г; у мышей-самок группы №1 в среднем на 3,3 г; у мышей-самок группы №2 в среднем на 3,7 г; у мышей-самок группы №3 в среднем на 3,5 г; у мышей-самок группы №4 (контрольной) в среднем на 3,7 г.

Таблица 2 – Результаты токсикологического эффекта производного бензамида – 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)-фенил]бензамида при внутрижелудочном введении мышам

Группа мышей	Группа 1		Группа 2		Группа 3		Группа 4 (контрольная)	
	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки
Доза, мг/кг	100	100	500	500	2000	2000	Вода очищенная	
Токсикологический эффект, пало/всего голов	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6

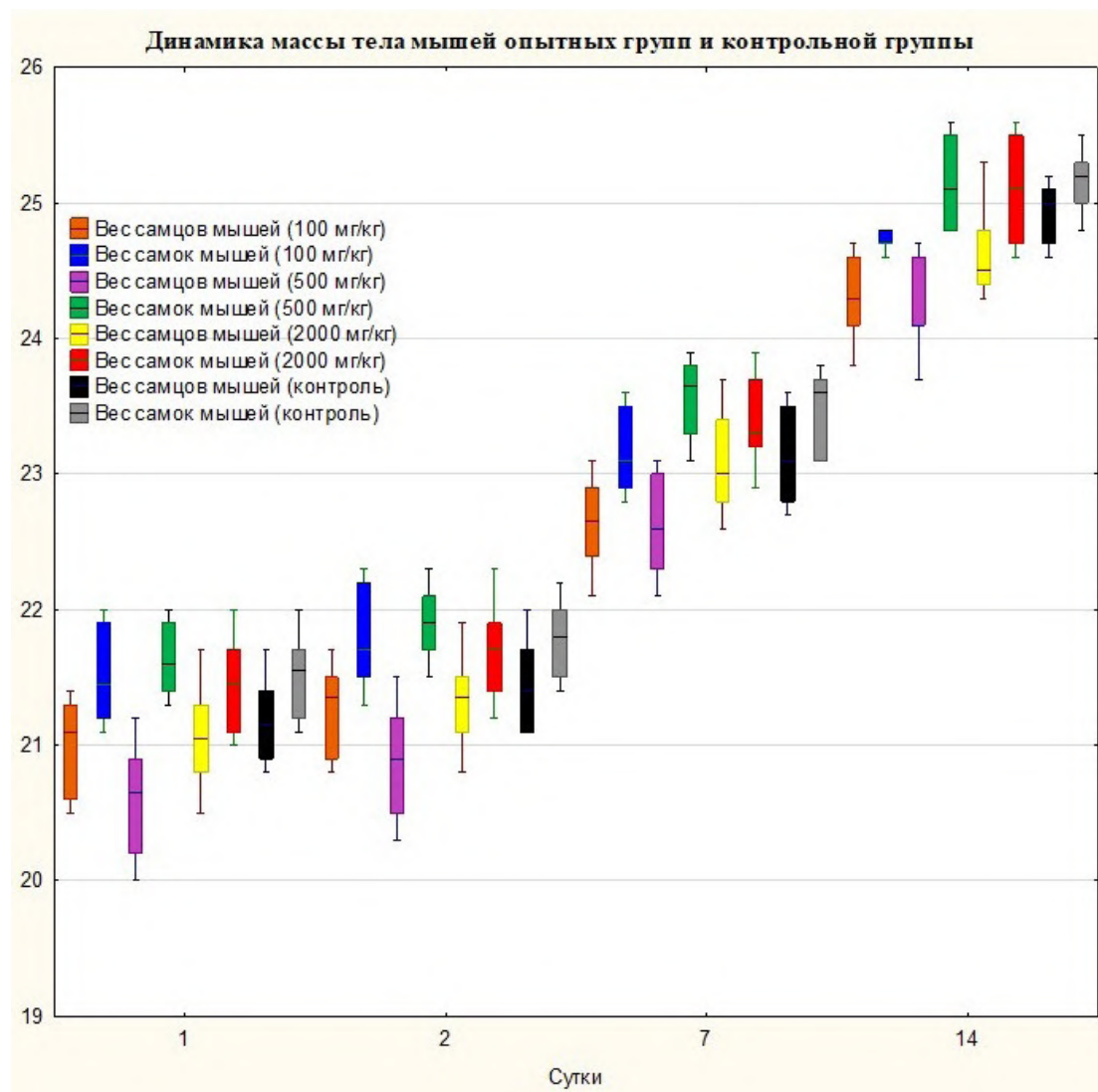


Рисунок 1 – Динамика массы тела мышей обоего пола опытных групп и контрольной группы

В каждой из опытных групп мышей обоего пола на 2-ой, 7-ой и 14-ый день эксперимента наблюдалось статистически незначимое увеличение массы тела по сравнению с контрольной группой (табл. 3) ($p > 0,05$).

По окончании эксперимента после эвтаназии животных определяли массу стресс-компетентных органов мышей – сердца, печени, легких, селезенки и почек (табл. 4).

Согласно данным таблицы 4, видно, что статистически значимые отличия у мышей-самцов всех групп выявлены в массе сердца и селезенки ($p < 0,05$), но величина массы сердца и селезенки во всех опытных группах находится в пределах нормы. В массе печени, легких и почек у мышей-самцов всех групп отличия были статистически незначимы ($p > 0,05$).

У мышей-самок всех групп статистически значимые отличия выявлены в массе селезенки ($p < 0,05$), но величина массы селезенки во всех опытных группах находится в пределах нормы. В массе сердца, печени, легких и почек у мышей-самок всех групп отличия были статистически незначимы ($p > 0,05$).

Результаты эксперимента на крысах

По данным таблицы 5 видно, что введение производного бензамида в количестве 100 мг/кг, 500 мг/кг и 2000 мг/кг живой массы не вызвало летального исхода крыс.

Динамика массы тела крыс обоего пола опытных групп при введении суспензии производного бензамида в возрастающей концентрации 100 мг/кг, 500 мг/кг и 2000 мг/кг и контрольной группы представлены на рисунке 2.

Таблица 3 – Уровень статистической значимости (p) сравнения массы тела мышей опытных групп с массой тела мышей контрольной группы (U-критерий Манна–Уитни)

День эксперимента	Уровень статистической значимости (p)		
	Группа № 1	Группа № 2	Группа № 3
Мыши-самцы			
2 день	0,522	0,0547	0,689
7 день	0,0547	0,0927	0,873
14 день	0,0547	0,0547	1,0
Мыши-самки			
2 день	1,0	0,631	0,631
7 день	0,0927	0,575	0,873
14 день	0,109	0,749	0,631

Таблица 4 – Показатели массы сердца, печени, легких, селезенки и почек (г, Me (Q1-Q3)) мышей опытных и контрольной групп

Орган	Масса органа, г				H-критерий Кра-скела-Уоллиса
	Группа 1 (100 мг/кг)	Группа 2 (500 мг/кг)	Группа 3 (2000 мг/кг)	Группа 4 (контроль) вода очищенная	
Мыши-самцы					
Сердце	0,825 (0,82-0,85)	0,805 (0,78-0,82)	0,865 (0,84-0,88)	0,86 (0,85-0,88)	H= 14,52; df=3, p=0,0023
Печень	1,1 (1,1-1,1)	1,1 (1,0-1,1)	1,1 (1,1-1,2)	1,1 (1,0-1,2)	H= 3,067; df=3, p=0,3815
Легкие	0,22 (0,19-0,23)	0,22 (0,19-0,24)	0,235 (0,22-0,27)	0,255 (0,23-0,27)	H= 5,532; df=3, p=0,1367
Селезенка	0,18 (0,18-0,19)	0,185 (0,18-0,19)	0,19 (0,18-0,20)	0,215 (0,21-0,22)	H= 13,474; df=3, p=0,0014
Почки	0,365 (0,36-0,39)	0,375 (0,38-0,38)	0,395 (0,37-0,40)	0,39 (0,39-0,39)	H= 7,406; df=3, p=0,06
Мыши-самки					
Сердце	0,895 (0,88-0,93)	0,94 (0,93-0,95)	0,895 (0,89-0,92)	0,92 (0,91-0,93)	H= 3,849; df=3, p=0,2783
Печень	1,1 (1,1-1,1)	1,15 (1,1-1,2)	1,1 (1,1-1,1)	1,15 (1,10-1,20)	H= 4,476; df=3, p=0,2145
Легкие	0,245 (0,24-0,27)	0,265 (0,25-0,27)	0,265 (0,25-0,28)	0,28 (0,27-0,28)	H= 3,754; df=3, p=0,2893
Селезенка	0,18 (0,18-0,19)	0,195 (0,19-0,20)	0,22 (0,21-0,23)	0,22 (0,22-0,23)	H= 16,264; df=3, p=0,001
Почки	0,39 (0,39-0,39)	0,395 (0,39-0,40)	0,40 (0,39-0,41)	0,40 (0,39-0,40)	H= 5,121; df=3, p=0,1632

Таблица 5 – Результаты токсикологического эффекта производного бензамида – 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)-фенил]бензамида при внутрижелудочном введении крысам

Группа крыс	Группа 1		Группа 2		Группа 3		Группа 4 (контрольная)	
	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки
Доза, мг/кг	100	100	500	500	2000	2000	Вода очищенная	
Токсикологический эффект, пало/всего голов	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6

Установлено статистически значимое увеличение массы тела крыс обоего пола на протяжении эксперимента. Во всех опытных группах и в контрольной группе $p=0,028$ (критерий Уилкоксона). Масса тела крыс на протяжении эксперимента увеличилась следующим образом: у крыс-самцов группы №1 в среднем на 24,0 г; у крыс-самцов группы №2 в среднем на 24,0 г; у крыс-самцов группы №3 в среднем на 23,3 г; у крыс-самцов группы №4 (контрольной) в среднем на 24,1 г; у крыс-самок группы №1 в среднем на 24,5 г; у крыс-самок группы №2 в среднем на 23,3 г; у крыс-самок группы №3 в среднем на 23,7 г; у крыс-самок группы №4 (контрольной) в среднем на 23,7 г. В каждой из опытных групп крыс обоего пола на 2-ой, 7-ой и 14-ый день эксперимента наблюдалось статистически незначимое увеличение массы тела по сравнению с контрольной

группой (табл. 6) ($p>0,05$), кроме крыс-самцов группы №2 – у них на 2-ой, 7-ой и 14-ый день эксперимента наблюдалось статистически значимое увеличение массы тела по сравнению с контрольной группой ($p<0,05$).

По окончании эксперимента после эвтаназии животных определяли массу стресс-компетентных органов крыс – сердца, печени, легких, селезенки и почек (табл. 7).

Согласно данным таблицы 7, видно, что статистически значимые отличия у крыс-самцов всех групп выявлены в массе сердца и легких ($p<0,05$), но величина массы сердца и легких во всех опытных группах находится в пределах нормы. В массе печени, селезенки и почек у крыс-самцов всех групп отличия были статистически незначимы ($p>0,05$).

У крыс-самок всех групп статистически значимые отличия выявлены в массе печени, селе-

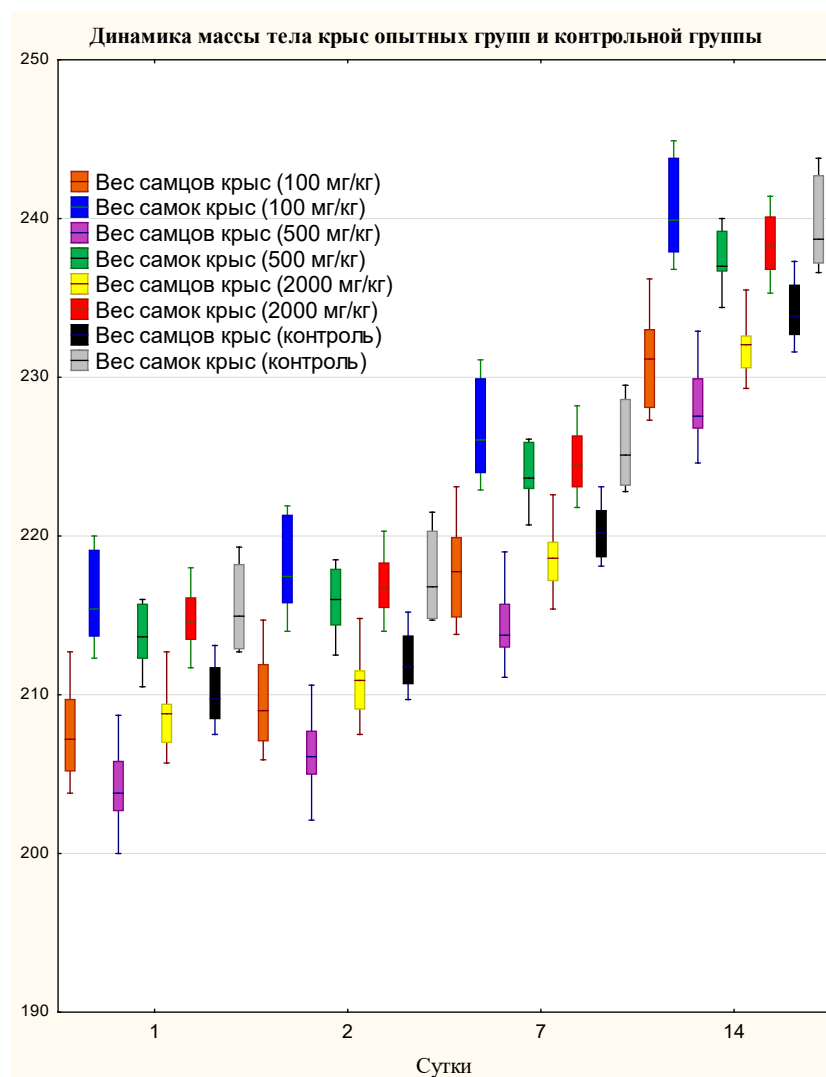


Рисунок 2 – Динамика массы тела крыс обоего пола опытных групп и контрольной группы

Таблица 6 – Уровень статистической значимости (p) сравнения массы тела крыс опытных групп с массой тела крыс контрольной группы (U-критерий Манна–Уитни)

День эксперимента	Уровень статистической значимости (p)		
	Группа № 1	Группа № 2	Группа № 3
Крысы-самцы			
2 день	0,173	0,00824	0,378
7 день	0,200	0,0131	0,230
14 день	0,128	0,0131	0,0927
Крысы-самки			
2 день	0,810	0,471	0,873
7 день	0,689	0,423	0,471
14 день	0,631	0,337	0,575

Таблица 7 – Показатели массы сердца, печени, легких, селезенки и почек (г, Me (Q1-Q3)) крыс опытных и контрольной групп

Орган	Масса органа, г				Н-критерий Краскелла-Уоллиса
	Группа 1 (100 мг/кг)	Группа 2 (500 мг/кг)	Группа 3 (2000 мг/кг)	Группа 4 (контроль) вода очищенная	
Крысы-самцы					
Сердце	1,0 (0,9-1,0)	0,9 (0,9-0,9)	1,0 (1,0-1,0)	1,0 (1,0-1,0)	H=10,0625; df=3, p=0,018
Печень	8,0 (7,9-8,1)	7,9 (7,9-7,9)	8,0 (7,9-8,0)	7,9 (7,9-8,0)	H=5,92; df=3, p=0,1156
Легкие	1,7 (1,6-1,7)	1,6 (1,6-1,7)	1,7 (1,7-1,8)	1,7 (1,7-1,7)	H=14,52; df=3, p=0,0023
Селезенка	1,1 (1,1-1,2)	1,05 (1,0-1,1)	1,0 (1,0-1,1)	1,1 (1,0-1,1)	H=3,31; df=3, p=0,3463
Почки	2,05 (2,0-2,1)	1,95 (1,9-2,1)	2,0 (2,0-2,1)	2,0 (1,9-2,0)	H=1,824; df=3, p=0,6097
Крысы-самки					
Сердце	1,05 (1,0-1,1)	1,0 (1,0-1,0)	1,0 (1,0-1,1)	1,0 (1,0-1,1)	H= 1,438; df=3, p=0,6968
Печень	8,4 (8,4-8,5)	8,4 (8,3-8,4)	8,0 (8,0-8,1)	8,0 (7,9-8,1)	H= 18,227; df=3, p=0,0004
Легкие	1,8 (1,8-1,8)	1,7 (1,7-1,8)	1,7 (1,6-1,7)	1,75 (1,7-1,8)	H= 6,953; df=3, p=0,0734
Селезенка	1,25 (1,2-1,3)	1,15 (1,1-1,2)	1,1 (1,0-1,1)	1,1 (1,1-1,2)	H= 10,938; df=3, p=0,0121
Почки	2,1 (2,1-2,2)	2,05 (2,0-2,1)	2,0 (1,9-2,1)	2,0 (2,0-2,0)	H= 10,364; df=3, p=0,0157

зенки и почек ($p < 0,05$), но величина массы печени, селезенки и почек во всех опытных группах находится в пределах нормы. В массе сердца и легких у крыс-самок всех групп отличия были статистически незначимы ($p > 0,05$).

Заключение

При оценке острой токсичности не было отмечено ранней и отдаленной гибели эксперимен-

тальных животных, получавших производное бензамида, поэтому определение уровня LD_{50} не представляется возможным. В связи с этим LD_{50} составляет более 2000 мг/кг. Таким образом, производное бензамида – 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)-фенил]бензамид является практически нетоксичным соединением, относится к 5-му классу токсичности по модифицированной классификации Организации экономического содействия и

развития (OECD) и согласно гармонизированной системе классификации опасности и маркировки химической продукции (GHS) относится к 5-му классу токсичности, т.е. обладает относительно низкой острой токсичностью. LD₅₀ производного бензамида значительно выше, чем LD₅₀ препарата I ряда для лечения туберкулеза изониазида (LD₅₀ изониазида составляет 170 мг/кг при внутрижелудочном введении мышам [9]), что характеризует производное бензамида как значительно менее токсичное соединение и является положительной характеристикой для его дальнейшего изучения.

Литература

1. Global tuberculosis research and its future prospects / J. A. Garrido-Cardenas [et al.] // Tuberculosis (Edinb). 2020 Mar. Vol. 121. 101917. doi: 10.1016/j.tube.2020.101917
2. 2020 Antibacterial agents in clinical and preclinical development: an overview and analysis [Electronic resource] / World Health Organization. Geneva, 2021. Mode of access: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240021303>. Date of access: 18.07.2022.
3. Global tuberculosis report 2020 [Electronic resource] / World Health Organization. Geneva, 2020. Mode of access: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>. Date of access: 18.07.2022.
4. Global Strategy for TB Research and Innovation (WHA73.3)

References

1. Garrido-Cardenas JA, de Lamo-Sevilla C, Cabezas-Fernández MT, Manzano-Agugliaro F, Martínez-Lirola M. Global tuberculosis research and its future prospects. Tuberculosis (Edinb). 2020 Mar;121:101917. doi: 10.1016/j.tube.2020.101917. Epub 2020 Feb 23.
2. World Health Organization. 2020 Antibacterial agents in clinical and preclinical development: an overview and analysis. Geneva; 2021. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240021303>. [Accessed 18th July 2022].
3. World Health Organization. Global tuberculosis report 2020. Geneva; 2020. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>. [Accessed 18th July 2022].
4. World Health Organization. Global Strategy for TB Research and Innovation (WHA73.3): Seventy-third World Health Assembly. Geneva; 2020. Available from: https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA73/A73_R3-en.pdf. [Accessed 18th July 2022].

- : Seventy-third World Health Assembly [Electronic resource] / World Health Organization. Geneva, 2020. Mode of access: https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA73/A73_R3-en.pdf. Date of access: 18.07.2022.
5. Сечко, О. Г. Противотуберкулезная активность производных бензамида и бензойной кислоты / О. Г. Сечко, И. Н. Слабко, В. М. Царенков // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : рец. ежегод. сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. С. П. Рубниковича, В. А. Филонюка. Минск, 2021. Вып. 11. С. 540–546.
 6. Griffiths, P. A. Mycobacterium terrae: a potential surrogate for Mycobacterium tuberculosis in a standard disinfectant test / P. A. Griffiths, J. R. Babb, A. P. Fraise // J. Hosp. Infect. 1998 Mar. Vol. 38, N 3. P. 183–192. doi: 10.1016/S0195-6701(98)90273-0.
 7. Мамылина, Н. В. Анализ поведенческой активности экспериментальных животных, перенесших эмоционально-болевого стресс / Н. В. Мамылина // Соврем. проблемы науки и образования [Электронный ресурс]. 2011. № 5. Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=4922>. Дата доступа: 18.07.2022.
 8. Гржибовский, А. М. Сравнение количественных данных трех и более независимых выборок с использованием программного обеспечения Statistica и SPSS: параметрические и непараметрические критерии / А. М. Гржибовский, С. В. Иванов, М. А. Горбатова // Наука и здравоохранение. 2016. № 4. С. 5–37.
 9. Isoniazid // Tuberculosis (Edinb). 2008 Mar. Vol. 88, N 2. P. 112–116. doi: 10.1016/S1472-9792(08)70011-8

Поступила 30.06.2022 г.

Принята в печать 10.08.2022 г.

5. Sechko OG, Slabko IN, Tsarenkov VM. Antituberculosis activity of benzamide and benzoic acid derivatives. V: M-vo zdravookhraneniya Resp Belarus', Belorus gos med un-t; Rubnikovich SP, Filonyuk VA, red. BGMU v avangarde meditsinskoj nauki i praktiki: rets ezhegod sb nach tr. Minsk, RB; 2021. Vyp 11. P. 540-6. (In Russ.)
6. Griffiths PA, Babb JR, Fraise AP. Mycobacterium terrae: a potential surrogate for Mycobacterium tuberculosis in a standard disinfectant test. J Hosp Infect. 1998 Mar;38(3):183-92. doi: 10.1016/s0195-6701(98)90273-0
7. Mamylyna NV. Analysis of behavioral activity of experimental animals undergoing emotional pain stress. Sovrem Problemy Nauki Obrazovaniya. 2011;(5). Available from: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=4922>. [Accessed 18th July 2022]. (In Russ.)
8. Grzhibovskii AM, Ivanov SV, Gorbatova MA. Comparison of quantitative data from three or more independent samples using Statistica and SPSS software: parametric and nonparametric criteria. Nauka Zravookhranenie. 2016;(4):5-37. (In Russ.)
9. Isoniazid. Tuberculosis (Edinb). 2008 Mar;88(2):112-6. doi: 10.1016/S1472-9792(08)70011-8

Submitted 30.06.2022

Accepted 10.08.2022

Сведения об авторах:

О.Г. Сечко – м.ф.н., аспирант, старший преподаватель кафедры фармацевтической технологии, Белорусский государственный медицинский университет, <https://orcid.org/0000-0001-5727-9936>

E-mail: olgasechko23.06@yandex.ru – Сечко Ольга Григорьевна;

В.М. Царенков – д.ф.н., профессор кафедры фармацевтической технологии, Белорусский государственный медицинский университет, <https://orcid.org/0000-0001-8724-7273>.

Information about authors:

O.G. Sechko – Master of Pharmaceutical Sciences, postgraduate, senior lecturer of the Chair of Pharmaceutical Technology, Belarusian State Medical University, <https://orcid.org/0000-0001-5727-9936>

E-mail: olgasechko23.06@yandex.ru – Olga G. Sechko;

V.M. Tsarenkov – Doctor of Pharmaceutical Sciences, professor of the Chair of Pharmaceutical Technology, Belarusian State Medical University, <https://orcid.org/0000-0001-8724-7273>.