

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК 615.322:615.012:547.7

DOI: <https://doi.org/10.52540/2074-9457.2022.4.83>

О. Г. Сечко

ПОДОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ 3-[4-(2-ФТОРБЕНЗОИЛ)ПИПЕРАЗИН-1-КАРБОНИЛ]-N-[3-(ТРИФТОРМЕТИЛ)ФЕНИЛ]БЕНЗАМИДА

Белорусский государственный медицинский университет,
г. Минск, Республика Беларусь

Представлены результаты токсикологического исследования безопасности противотуберкулезного соединения – производного бензамида – 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамида. Установлено отсутствие статистически значимых изменений в состоянии животных на протяжении 28 дней эксперимента при введении исследуемого соединения в дозах 10 мг/кг, 50 мг/кг и 100 мг/кг внутрижелудочно. Проведен анализ изменений в массе тела, массовых коэффициентах внутренних органов крыс, патологических изменений и нарушений в структурной организации внутренних органов. Исследованы биохимические показатели сыворотки крови, гематологические показатели крови, лабораторные показатели функции почек и суточные метаболические показатели. Массовые коэффициенты органов крыс находились в пределах нормальных значений. Патологических изменений внутренних органов ни в одной из групп не выявлено. Установлено, что прием производного бензамида влияет на некоторые биохимические показатели (общий белок, АЛТ, билирубин, глюкоза и мочевины), на некоторые гематологические показатели (содержание эритроцитов, гемоглобин, гематокрит, содержание тромбоцитов, тромбоциты, средняя концентрация гемоглобина в эритроците и коэффициент больших тромбоцитов) и способствует появлению глюкозы в моче у самок, принимавших дозу 100 мг/кг, у самцов глюкоза не была обнаружена. Исследование суточных метаболических показателей не выявило никаких статистически значимых отклонений по сравнению с контрольной группой. Таким образом, соединение 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамид не вызывает гибель животных и обнаруживаемых токсических эффектов и поэтому является перспективным для проведения дальнейших доклинических исследований.

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

ВВЕДЕНИЕ

Множественная лекарственная устойчивость и широкая лекарственная устойчивость возбудителя туберкулеза *Mycobacterium tuberculosis H37Rv* к противотуберкулезным препаратам с каждым годом возрастает и является основной проблемой в борьбе с туберкулезом [1, 2]. В этой связи актуальным является поиск новых противотуберкулезных соединений, специфичных к новой биомишени и активных как в отношении лекарственно-чувствительных штаммов *Mycobacterium*

tuberculosis, так и в отношении штаммов с лекарственной устойчивостью.

Перспективным в эксперименте противотуберкулезным соединением является производное бензамида – 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамид [3]. В предыдущих исследованиях нами 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 кон-

центрации 100 мкг/мл. В эксперименте по оценке острой токсичности определено, что производное бензамида является практически нетоксичным соединением [4].

Исследования подострой токсичности являются неотъемлемой частью доклинических исследований и позволяют оценить повреждающее действие исследуемого соединения при его многократном повторном введении, выявить токсические эффекты и определить наиболее чувствительные к действию исследуемого препарата органы и системы организма, так называемые мишени токсических воздействий.

Цель настоящей работы – исследовать подострую токсичность 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамида.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемое соединение – 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамид – синтезировано в Государственном научном учреждении «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси». 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 о защите животных, используемых в научных целях. Исследование выполняли согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (2005), по ГОСТ 33215-2014 [5–8].

Токсикометрию осуществляли с учетом половозрастных особенностей животных – на 40 клинически здоровых крысах обоего пола массой 190–210 г линии Wistar с хорошими показателями экстерьера. Грызуны содержались в стандартных условиях вивария при температуре 18–22 °С, влажности воздуха 40–45% и принимали стандартный сбалансированный пищевой рацион. В исследование включали животных, которые прошли карантин на протяжении 14 дней. Для оценки подострой токсичности были сформированы 3 опытные группы и контрольная группа крыс (n = 10) согласно схеме, указанной в таблице 1.

Таблица 1. – Схема внутрижелудочного введения 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамида крысам

№ группы	Доза 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамида, мг/кг
1	10
2	50
3	100
4 (контроль)	Равный объем воды очищенной

Для идентификации животных каждой особи была присвоена определенная метка пикриновой кислотой. Перед введением необходимой дозировки животных взвешивали и на основании данных массы тела высчитывали точный объем суспензии, который необходимо ввести. Суспензию опытные животные принимали в утреннее время (в 7:30) за 3 часа до приема пищи. Воды животных не лишали. Исследуемое соединение вводили однократно внутрижелудочно в виде суспензии в следующих дозах – 10 мг/кг, 50 мг/кг и 100 мг/кг живой массы с помощью иглы с булавовидным утолщением. Вследствие плохой растворимости в воде производное бензамида исследовали в виде суспензии. Суспензию

готовили следующим образом: отвешивали рассчитанное количество производного бензамида и добавляли его в 1/2 части отмеренного объема воды очищенной, полученную суспензию диспергировали и гомогенизировали с помощью лабораторного диспергатора T18 digital ULTRA-TURRAX® (IKA, Германия) сначала со скоростью 8 000 об/мин на протяжении одной минуты, затем со скоростью 16 000 об/мин на протяжении 3 минут. Оставшимся объемом воды очищенной (1/2 часть) смывали остатки производного бензамида с диспергирующей насадки гомогенизатора для избежания потерь, получая однородную суспензию высокой дисперсности. Объем вводимой внутрижелудочной водной

суспензии рассчитывали исходя из максимально допустимых объемов введения жидкостей для лабораторных животных, в зависимости от массы тела и пути введения [9]. Объем вводимой внутрижелудочной водной суспензии не превышал 5,0 мл

на 200,0 г массы тела.

Экспериментальная программа исследования подострой токсичности 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамида представлена в таблице 2.

Таблица 2. – Экспериментальная программа исследования подострой токсичности 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамида при ежедневном 28-дневном внутрижелудочном введении

Показатель	Сутки
Регистрация состояния животных	ежедневно
Взвешивание	До начала эксперимента, 8-е, 15-е, 22-е и 29-е* сутки
Метаболические исследования	27-е сутки
Анализ мочи	28-е сутки
Гематологические исследования	29-е сутки
Биохимические исследования	29-е сутки
Макроскопические исследования	29-е сутки

Примечание: *На 29-е сутки осуществляли вывод животных из эксперимента.

Самок содержали отдельно от самцов. Осмотр животных проводили 2 раза в сутки. Для оценки картины интоксикации с регулярной периодичностью фиксировали общее 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. По истечении 28 дней животных подвергли эвтаназии, провели некропсию, после чего осуществляли визуальный осмотр, макроскопический анализ внутренних органов и определяли массу следующих органов: сердце, печень, легкие, селезенка, почки и мозг. Органы взвешивали влажными, сразу же после некропсии, чтобы избежать их высыхания, парные органы (почки) взвешивали вместе. Анализ массовых коэффициентов при токсикологических исследованиях дает возможность обнаружить орган-мишень токсиканта, поэтому проводили сравнение показателей массы тела и массовых коэффициентов внутренних органов опытных групп с контрольной группой. Массовый коэффициент (МК) органа рассчитывали

по формуле $МК = \frac{\text{масса органа (г)}}{\text{масса тела (г)}} \cdot 100\%$.

Для исследования функционального состояния почек крыс помещали на 4–5 часов в индивидуальные клетки, которые предназначены для сбора мочи в стерильную пробирку с градуировкой. Мочу наносили на тест-полоску Uriscan U41 (YD Diagnostics, Южная Корея), тест-полоску помещали в анализатор мочи Uriscan PRO II (YD Diagnostics, Южная Корея) для определения следующих показателей: билирубин, уробилиноген, кетоновые тела, белок, нитриты, глюкоза, лейкоциты, концентрация аскорбиновой кислоты, pH, относительная плотность мочи (удельный вес мочи) и цвет мочи.

Для проведения гематологических и биохимических исследований у животных каждой группы осуществляли забор крови в пробирки с антикоагулянтом К2 ЭДТА. Общий анализ крови осуществляли с помощью автоматического лазерного дифференциального гематологического анализатора Norma iVet 5 и оригинальных расходных материалов (Norma Instruments Zrt., Венгрия). В цельной крови с антикоагулянтом были рассчитаны следующие показатели: абсолютное количество лейкоцитов (WBC), абсолютное количество лимфоцитов (LYM), абсолютное количество моноцитов (MON), абсолютное количество нейтрофилов (NEU), абсолютное количество эозинофилов (EOS), абсолютное количество базофилов (BAS), относитель-

ное количество лимфоцитов, % (LYM, %), относительное количество моноцитов, % (MON, %), относительное количество нейтрофилов, % (NEU, %), относительное количество эозинофилов, % (EOS, %), относительное количество базофилов, % (BAS, %), эритроциты (RBC), гемоглобин (HGB), средний корпускулярный объем эритроцита (MCV), гематокрит (HCT), среднее содержание гемоглобина в эритроците (цветной показатель крови) (MCH), средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), ширина распределения эритроцитов по объему, фл (RDWsd), ширина распределения эритроцитов, % (RDWcv), абсолютное количество тромбоцитов (PLT), средний объем тромбоцитов (MPV), тромбоцит (PCT), ширина распределения тромбоцитов по объему, % (PDWcv), ширина распределения тромбоцитов по объему, фл (PDWsd), коэффициент больших тромбоцитов (PLC-R), фракция больших тромбоцитов (PLC-C).

В сыворотке крови животных на автоматическом биохимическом анализаторе Random Access A-25 (BioSystems, Испания) рассчитаны следующие показатели: аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспаратаминотрансфераза (АСТ), билирубин, холестерин, креатинин, глюкоза, общий белок и мочевины. Концентрации всех анализов определяли с помощью биохимического набора реагентов BioSystems (Испания).

Сыворотку крови получали по общепринятой методике. Все этапы отбора биологического материала и пробоподготовки выполняли с соблюдением стандартных операционных процедур.

Для проведения метаболического исследования животных помещали по одному в метаболические клетки (Ugo Basile S.R.L., Model 41700-043, Comerio VA, Италия) для мониторинга аппетита, жажды, суточного диуреза и суточной дефекации. По истечении 24 часов фиксировали следующие показатели: масса потребленного корма, объем выпитой воды, объем мочи и масса фекалий. Результаты, полученные в опытных группах, сравнивали с результатами, полученными в контрольной группе.

Статистический анализ полученных экспериментальных данных и построение диаграмм размаха проводили с использованием компьютерной программы «Statistica 10.0» («StatSoft, Inc.», США). Для опи-

сания количественного признака в совокупности указаны среднее (M) ± ошибка среднего (m). 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 количественных данных животных опытной группы с количественными данными животных контрольной группы использовали непараметрический ранговый U-критерий Манна-Уитни. Данные о массе внутренних органов анализировали с использованием непараметрического H-критерия Краскела-Уоллиса. Различия считали статистически значимыми с вероятностью не менее 95% ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ежедневное однократное введение 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил] бензамида в дозах 10 мг/кг, 50 мг/кг и 100 мг/кг на протяжении 28 дней не вызывало гибели животных. Во всех группах животные были клинически здоровы. Признаки токсического действия производного бензамида отсутствовали. Клиническое состояние крыс опытных групп не отличалось от состояния крыс контрольной группы: все животные реагировали на раздражители извне (тактильные, болевые, звуковые и световые), охотно поедали корм, кал был всегда сформированный, кожный покров целостный, без видимых повреждений, покраснения, алопеция и раздражения отсутствовали, тургор кожи был в норме. Конъюнктивы, слизистая оболочка носовой и ротовой полости, половых органов и анального отверстия не имели видимых повреждений. Отклонений в работе дыхательной системы обнаружено не было.

Динамика массы тела крыс опытных групп и контрольной группы представлена на рисунке 1.

Установлено статистически значимое увеличение массы тела крыс обоего пола на протяжении эксперимента во всех опытных группах и в контрольной группе (критерий Уилкоксона, $p = 0,043$). Масса тела крыс на протяжении эксперимента увеличилась следующим образом: у крыс группы № 1 (доза

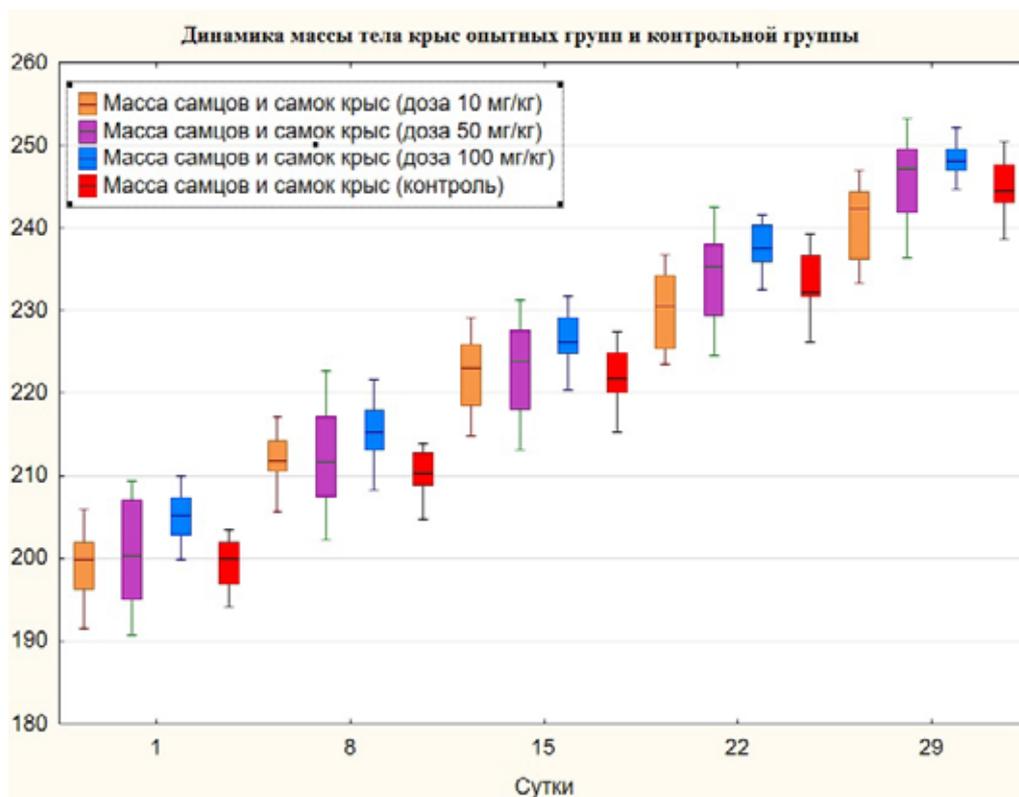


Рисунок 1. – Динамика массы тела крыс опытных групп и контрольной группы

10 мг/кг) в среднем на $41,6 \pm 0,8$ г; у крыс группы № 2 (доза 50 мг/кг) в среднем на $45,8 \pm 0,7$ г; у крыс группы № 3 (доза 100 мг/кг) в среднем на $43,7 \pm 0,6$ г; у крыс группы № 4 (контрольная) в среднем на $44,3 \pm 0,2$ г.

В опытных группах № 1 и № 2 на 8-ой, 15-ый, 22-ой и 29-ый день эксперимента наблюдалось статистически незначимое увеличение массы тела по сравнению с контрольной группой (таблица 3) ($p > 0,05$). В опытной группе № 3 на 8-ой, 15-ый, 22-ой и 29-ый день эксперимента наблюдалось статистически значимое увеличение массы тела по сравнению с контрольной группой (таблица 3) ($p < 0,05$), однако масса всех животных находилась в пределах физиологической нормы.

В ходе макроскопического исследования внутренних органов животных всех групп

не обнаружено проявлений воспалительных патологических процессов (таблица 4).

Результаты расчета массовых коэффициентов стресс-компетентных органов представлены в таблице 5. Статистически значимые отличия ($p < 0,05$) у крыс всех опытных групп по сравнению с контрольной группой выявлены в массе сердца, печени, селезенки, почек и мозга, при этом все величины во всех опытных группах находятся в пределах нормы. В массе легких у крыс всех групп отличия были статистически незначимы ($p > 0,05$).

Биохимические показатели крови. Исследование биохимических показателей сыворотки крови показало, что прием производного бензамида во всех исследуемых дозах сопровождается статистически значимым ($p < 0,05$) увеличением содержания

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

День эксперимента	Уровень статистической значимости (p)		
	Группа № 1	Группа № 2	Группа № 3
8-й	0,4274	0,7055	0,0233
15-й	0,7624	0,6232	0,0140
22-й	0,1736	0,6232	0,0102
29-й	0,0757	0,5454	0,0284

Таблица 4. – Результаты макроскопического исследования внутренних органов крыс

Сердце	У всех животных не было увеличено в размере, имело овоидную форму, гладкую и блестящую поверхность, темно-вишневый цвет, эпикард гладкий и блестящий, висцеральная пластинка (серозный перикард) ярко-розового цвета, гладкая.
Легкие	Не были увеличены в размере, розового цвета, с гладкой поверхностью, без кровоизлияний, без пятен и вкраплений, легочная плевро (серозная оболочка) розового цвета, гладкая, без видимых пятен и изменений.
Печень	Не была увеличена в размере, округлая, с неправильными очертаниями, красно-коричневого цвета, капсула гладкая, без пятен и вкраплений.
Селезенка	Не была увеличена в размере, имела вытянутую форму, слегка уплощенная, края слегка заострены, темно-вишневого цвета. Капсула селезенки гладкая, бело-серого цвета, достаточно плотная, покрыта серозной оболочкой, которая является гладкой.
Почки	Не были увеличены в размере, бобовидной формы, темно-вишневого цвета, покрыты гладкой фиброзной капсулой, которая достаточно легко снимается. На поперечном и продольном разрезе почки хорошо различимы корковое вещество – светлая зона, находится на периферии, и мозговое вещество – более темная зона, находится в центре. Слизистая лоханки светло-розового цвета, гладкая и блестящая.
Желудок	Имел форму крючка, дно желудка – крупное и широкое, пилорическая часть – более узкая. В кардиальной части желудка слизистая оболочка более прозрачная, имеет бледно-белесоватый цвет, в пилорической части – слизистая оболочка не прозрачная, красновато-серая, васкуляризованная. Кардиальное отверстие находилось по середине малой кривизны желудка, складчатый край извилистый. Серозная оболочка желудка гладкая и слегка серого цвета. Слизистая оболочка желудка гладкая и блестящая.

Таблица 5. – Массовые коэффициенты внутренних органов крыс опытных групп и контрольной группы

Орган	Массовый коэффициент %, $M \pm m$				Н-критерий Краскела-Уоллиса
	Группа 1 (10 мг/кг)	Группа 2 (50 мг/кг)	Группа 3 (100 мг/кг)	Группа 4 (контроль)	
Сердце	0,342 ± 0,003	0,355 ± 0,007	0,399 ± 0,011	0,384 ± 0,016	$H = 15,596; df = 3, p = 0,001$
Печень	4,054 ± 0,032	4,336 ± 0,039	4,157 ± 0,035	4,154 ± 0,046	$H = 16,412; df = 3, p = 0,001$
Легкие	0,762 ± 0,013	0,796 ± 0,014	0,794 ± 0,010	0,784 ± 0,009	$H = 5,615; df = 3, p = 0,132$
Селезенка	0,556 ± 0,032	0,742 ± 0,013	0,717 ± 0,015	0,756 ± 0,015	$H = 16,655; df = 3, p = 0,001$
Почки	0,747 ± 0,011	0,764 ± 0,009	0,758 ± 0,013	0,797 ± 0,013	$H = 7,898; df = 3, p = 0,048$
Мозг	0,754 ± 0,015	0,810 ± 0,018	0,828 ± 0,016	0,808 ± 0,013	$H = 9,954; df = 3, p = 0,019$

общего белка по сравнению с контрольной группой. При приеме производного бензамида в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг наблюдали статистически значимое ($p < 0,05$) снижение содержания АЛТ и увеличение содержания билирубина по сравнению с контрольной группой. При приеме производного бензамида в дозе 100 мг/кг наблюдали статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение содержания глюкозы и снижение содержания мочевины по сравнению с контрольной группой. По другим изученным биохимическим показателям статистически значимых изменений выявлено не было (таблица 6).

Гематологические показатели крови. Исследование гематологических показателей крови крыс показало, что прием производного бензамида во всех исследуемых дозах сопровождается статистически значимым ($p < 0,05$) увеличением содержания эритроцитов, гемоглобина и увеличением показателя «гематокрит» в опытных группах по сравнению с контрольной группой. При приеме производного бензамида в дозе 10 мг/кг наблюдали статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение содержания тромбоцитов и показателя «тромбоцит». При приеме производного бензамида в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг наблюдали

статистически значимое ($p < 0,05$) снижение средней концентрации гемоглобина в эритроците. При приеме производного бензамида в дозе 50 мг/кг наблюдали статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение коэффициента больших тромбоцитов, при

приеме в дозе 100 мг/кг – статистически значимое ($p < 0,05$) уменьшение коэффициента больших тромбоцитов. По другим изученным гематологическим показателям крови статистически значимых изменений выявлено не было (таблица 7).

Таблица 6. – Биохимические показатели сыворотки крови у крыс опытных групп и контрольной группы ($M \pm m$)

Показатели, единицы измерения	Группа 1 (10 мг/кг)	Группа 2 (50 мг/кг)	Группа 3 (100 мг/кг)	Группа 4 (контроль)
АЛТ, ед/л	73,4000 ± 6,1918	45,7000 ± 2,0873	46,2000 ± 3,3987	85,3000 ± 5,6824
АСТ, ед/л	159,6000 ± 8,6077	150,0000 ± 13,4965	124,2000 ± 6,3889	148,3000 ± 8,9257
Билирубин, мг/дл	1,9600 ± 0,3452	2,1100 ± 0,1748	2,2900 ± 0,2321	1,3800 ± 0,2175
Холестерол, мг/дл	2,0000 ± 0,1491	2,2000 ± 0,2000	2,4000 ± 0,1633	2,5000 ± 0,1667
Креатинин, мг/дл	90,0090 ± 3,2334	101,5240 ± 3,6441	87,5020 ± 3,1471	126,5390 ± 39,3037
Глюкоза, мг/дл	12,1000 ± 1,7854	10,3000 ± 0,8307	10,6000 ± 0,4761	9,1000 ± 0,3786
Белок общий, г/л	75,4000 ± 2,6424	69,0000 ± 1,4220	68,5000 ± 1,0980	63,1000 ± 0,9000
Мочевина, мг/дл	17,8000 ± 0,6110	17,2000 ± 1,6111	12,5000 ± 1,1212	18,7000 ± 1,8682
Непараметрический U-критерий Манна-Уитни, p				
АЛТ, ед/л	0,1405	0,0003	0,0006	
АСТ, ед/л	0,2730	0,4963	0,0757	
Билирубин, мг/дл	0,1509	0,0257	0,0140	
Холестерол, мг/дл	0,0963	0,3643	0,7337	
Креатинин, мг/дл	0,9097	0,0756	0,5708	
Глюкоза, мг/дл	0,2413	0,2413	0,0343	
Белок общий, г/л	0,0004	0,0058	0,0052	
Мочевина, мг/дл	0,0757	0,2730	0,0263	

Таблица 7. – Гематологические показатели крови у крыс опытных и контрольной групп ($M \pm m$)

Показатели, единицы измерения	Группа 1 (10 мг/кг)	Группа 2 (50 мг/кг)	Группа 3 (100 мг/кг)	Группа 4 (контроль)
Лейкоциты (WBC), $10^9/л$ (клеток/л)	8,6600 ± 0,9046	10,7700 ± 1,5426	8,5444 ± 0,7820	8,2700 ± 1,0621
Лимфоциты (LYM), $10^9/л$ (клеток/л)	7,2900 ± 0,7024	9,1700 ± 1,6711	7,4444 ± 0,7706	7,0100 ± 1,0081
Моноциты (MON), $10^9/л$ (клеток/л)	0,0800 ± 0,0389	0,1500 ± 0,0860	0,0444 ± 0,0321	0,0800 ± 0,0389
Нейтрофилы (NEU), $10^9/л$ (клеток/л)	1,1900 ± 0,2896	1,3400 ± 0,3337	0,9889 ± 0,3318	1,1000 ± 0,1719
Эозинофилы (EOS), $10^9/л$ (клеток/л)	0,0600 ± 0,0163	0,0700 ± 0,0153	0,0778 ± 0,0211	0,0700 ± 0,0213
Базофилы (BAS), $10^9/л$ (клеток/л)	0,0000 ± 0,0000	0,0100 ± 0,0100	0,0100 ± 0,0100	0,0000 ± 0,0000
Лимфоциты (LYM), %	84,7600 ± 2,2810	81,8700 ± 6,0555	87,0667 ± 3,7405	82,5000 ± 3,3374
Моноциты (MON), %	0,9000 ± 0,2206	1,8700 ± 1,1612	0,5667 ± 0,2650	0,8900 ± 0,3171
Нейтрофилы (NEU), %	13,2800 ± 1,9343	15,3900 ± 4,9526	11,3222 ± 3,3650	15,6400 ± 3,2748
Эозинофилы (EOS), %	1,0500 ± 0,2051	0,8000 ± 0,1713	1,0111 ± 0,1965	0,9500 ± 0,1493
Базофилы (BAS), %	0,0100 ± 0,0100	0,0700 ± 0,0700	0,0333 ± 0,0316	0,0200 ± 0,0133

Продолжение таблицы 7.

Эритроциты (RBC), 10 ¹² /л (клеток/л)	7,5750 ± 0,3587	7,8550 ± 0,2963	7,5500 ± 0,1944	6,5240 ± 0,1871
Гемоглобин (HGB), г/л	125,0000 ± 5,6016	127,9000 ± 4,4733	123,1111 ± 2,7361	109,5000 ± 2,6677
Средний объем эритроцита (MCV), фл	52,0000 ± 0,6992	51,4000 ± 1,2220	50,6000 ± 0,8718	51,7000 ± 0,5588
Гематокрит (HCT), %	39,5000 ± 2,1409	40,4000 ± 1,7397	38,3000 ± 1,0116	33,5000 ± 1,0028
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), пг	16,5300 ± 0,2186	16,3300 ± 0,2543	16,3667 ± 0,2074	16,8100 ± 0,1741
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л	318,0000 ± 3,8759	317,6000 ± 3,0375	319,6667 ± 1,9685	326,4000 ± 1,6680
Ширина распределения эритроцитов по объему (RDWsd), фл	25,6500 ± 1,1404	26,0100 ± 0,7281	23,9420 ± 0,5873	25,9200 ± 1,4685
Ширина распределения эритроцитов по объему (RDWcv), %	17,9700 ± 0,8094	18,3900 ± 0,3805	17,2600 ± 0,6258	18,2900 ± 1,0380
Тромбоциты (PLT), 10 ⁹ /л (клеток/л)	391,7000 ± 26,5849	404,6000 ± 49,8570	376,2000 ± 62,0279	286,3000 ± 50,8263
Средний объем тромбоцита (MPV), фл	5,8500 ± 0,0992	5,8500 ± 0,0749	5,7700 ± 0,1407	5,8700 ± 0,1055
Тромбокрит (PCT), %	0,2330 ± 0,0189	0,2370 ± 0,0291	0,2170 ± 0,0385	0,1700 ± 0,0304
Ширина распределения тромбоцитов по объему (PDWcv), %	40,5500 ± 1,1230	40,4200 ± 1,1315	40,1100 ± 1,6543	41,9400 ± 1,0588
Ширина распределения тромбоцитов по объему (PDWsd), фл	6,3400 ± 0,2583	6,3100 ± 0,2369	6,2300 ± 0,3969	6,5800 ± 0,2323
Коэффициент больших тромбоцитов (PLC-R), %	8,7000 ± 0,3958	29,9000 ± 4,8430	8,4000 ± 0,5617	9,8000 ± 0,5121
Фракция больших тромбоцитов (PLC-C), 10 ⁹ /л (клеток/л)	34,6000 ± 3,7094	35,9000 ± 4,0344	29,9000 ± 4,8430	27,7000 ± 4,7283
Непараметрический U-критерий Манна-Уитни, p				
WBC	0,9397	0,3258	0,9025	
LYM	0,8798	0,4497	0,8703	
MON	1,0000	0,6232	0,3691	
NEU	0,9699	0,5967	0,3477	
EOS	0,8501	0,9397	0,8383	
BAS	1,0000	0,7337	1,0000	
LYM%	0,8501	0,3847	0,1530	
MON%	0,5454	0,4274	0,1416	
NEU%	0,8798	0,4727	0,1779	
EOS%	0,8798	0,4727	0,9674	
BAS%	0,7337	0,7913	0,8383	
RBC	0,0312	0,0017	0,0025	
HGB	0,0233	0,0022	0,0055	
MCV	0,8798	0,5454	0,3847	
HCT	0,0156	0,0036	0,0065	
MCH	0,3075	0,1736	0,1416	
MCHC	0,1212	0,0126	0,0247	
RDWsd	0,8501	0,7337	0,5205	
RDWcv	0,7913	0,7055	0,5708	
PLT	0,0140	0,0640	0,1988	
MPV	0,7055	0,7624	0,4057	
PCT	0,0257	0,0696	0,3075	
PDWcv	0,4274	0,3075	0,0640	
PDWsd	0,3643	0,2568	0,1306	
PLC-R	0,1212	0,0007	0,0494	
PLC-C	0,1041	0,1041	0,5708	

Функциональное состояние почек.

Исследование лабораторных показателей функции почек показало, что у 4 самок при приеме производного бензамида в дозе 100 мг/кг была обнаружена глюкоза, а у самцов глюкозы обнаружено не было. Цвет мочи укладывался в физиологические нормы у животных всех групп. По другим изученным показателям статистически значимых изменений выявлено

не было (таблица 8).

Метаболические показатели. Исследование суточных метаболических показателей показало, что прием производного бензамида во всех исследуемых дозах не вызывает статистически значимых изменений в количестве потребляемого корма, выпитой воды, в объеме мочи и в массе фекалий по сравнению с контрольной группой (таблица 9).

Таблица 8. – Показатели мочи у крыс опытных и контрольной групп (M ± m)

Показатели, единицы измерения	Группа 1 (10 мг/кг)	Группа 2 (50 мг/кг)	Группа 3 (100 мг/кг)	Группа 4 (контроль)
Билирубин, мг/100 мл	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000
Уробилиноген, мг/100 мл	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000
Кетоновые тела, мг/100 ml	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000
Белок, мг/100 мл	0,3200 ± 0,1191	0,3900 ± 0,2923	0,3000 ± 0,1183	0,3500 ± 0,1138
Нитриты, мг/100 мл	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000
Глюкоза, мг/100 мл	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000	3,9000 ± 1,8270	0,0000 ± 0,0000
pH	5,4000 ± 0,2333	6,7500 ± 0,2267	7,2500 ± 0,2267	6,4000 ± 0,5153
Удельный вес, г/л	1,0130 ± 0,0011	1,0065 ± 0,0011	1,0065 ± 0,0011	1,0110 ± 0,0016
Лейкоциты, в 1 мкл	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000	0,0000 ± 0,0000
Аскорбиновая кислота, мг/100 мл	0,2400 ± 0,0980	0,3400 ± 0,2798	0,0000 ± 0,0000	0,3800 ± 0,1417
Непараметрический U-критерий Манна-Уитни, p				
Белок, мг/100 мл	0,7055	0,1736	0,5454	
Глюкоза, мг/100 мл	1,0000	1,0000	0,1684	
pH	0,1124	0,2730	0,1041	
Удельный вес, г/л	0,5205	0,0890	0,0890	
Аскорбиновая кислота, мг/100 мл	0,6232	0,3447	0,0640	

Таблица 9. – Метаболические показатели у крыс опытных и контрольной групп (M ± m)

Показатели, единицы измерения	Группа 1 (10 мг/кг)	Группа 2 (50 мг/кг)	Группа 3 (100 мг/кг)	Группа 4 (контроль)
Суточная масса корма, г	26,0000 ± 1,0646	26,4000 ± 0,9214	26,2000 ± 1,2806	26,5000 ± 1,0138
Суточный объем воды, мл	38,5000 ± 1,1279	34,8000 ± 1,1279	38,0000 ± 1,1832	37,5000 ± 0,9916
Суточный объем мочи, мл	20,4000 ± 1,1662	22,8000 ± 1,0414	21,5000 ± 1,2671	21,8000 ± 1,4126
Суточная масса фекалий, г	14,2000 ± 0,4899	13,9000 ± 0,8226	15,2000 ± 0,6633	15,7000 ± 0,5783
Непараметрический U-критерий Манна-Уитни, p				
Суточная масса корма, г	0,8206	0,9699	0,9097	
Суточный объем воды, мл	0,5205	0,0890	0,8501	
Суточный объем мочи, мл	0,4497	0,5454	0,9097	
Суточная масса фекалий, г	0,0696	0,1124	0,6501	

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования токсичности 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамида при ежедневном внутрижелудочном введении крысам обоего пола линии Wistar в дозах 10 мг/кг, 50 мг/кг и 100 мг/кг на протяжении 28 дней не выявлено никаких отклонений в состоянии животных на протяжении всего эксперимента и гибели животных не наступало. Максимальная прибавка массы тела была отмечена у группы крыс, принимавших дозу 50 мг/кг, минимальная – у группы крыс, принимавших дозу 10 мг/кг. Массовые коэффициенты внутренних органов крыс, несмотря на наличие статистически значимых отличий в сравнении с контрольной группой, находились в пределах нормальных значений. Патологических изменений и нарушений в структурной организации внутренних органов ни в одной из групп исследуемых животных не выявлено. Исследование биохимических показателей сыворотки крови показало, что прием производного бензамида влияет на следующие показатели: общий белок, АЛТ, билирубин, глюкоза и мочевины. Исследование гематологических показателей крови показало, что прием производного бензамида влияет на следующие показатели: содержание эритроцитов, гемоглобин, гематокрит, содержание тромбоцитов, тромбокрит, средняя концентрация гемоглобина в эритроците и коэффициент больших тромбоцитов. Исследование лабораторных показателей функции почек показало, что прием производного бензамида способствует появлению глюкозы в моче, так как у 4 самок из 5, принимавших вещество в дозе 100 мг/кг, обнаружена глюкоза в моче; у самцов глюкозы обнаружено не было. Исследование суточных метаболических показателей не выявило никаких статистически значимых отклонений по сравнению с контрольной группой. Таким образом, производное бензамида 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамид является перспективным соединением для проведения дальнейших доклинических исследований.

SUMMARY

O. G. Sechko
SUBACUTE TOXICITY OF
3-[4-(2-FLUOROBENZOYL)PIPERAZINE-
1-CARBONYL)-N-(3-
(TRIFLUOROMETHYL)PHENYL]
BENZAMIDE

The results of the toxicological study on antituberculous compound safety, a benzamide derivative, 3-[4-(2-fluorobenzoyl)piperazine-1-carbonyl)-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl]benzamide are presented. Absence of statistically significant changes in the condition of animals during the 28-day experiment is established with the introduction of the compound being tested at doses of 10 mg/kg, 50 mg/kg and 100 mg/kg intragastrically. Analysis of changes in body weight, mass coefficients of internal organs in rats, pathological changes and disturbances in the structural organization of internal organs was carried out. Biochemical parameters of blood serum, hematological parameters of blood, laboratory indicators of kidney function and daily metabolic parameters were studied. The mass coefficients of rat organs were within the normal range. No pathological changes in the internal organs were found in any of the groups. It has been established that taking a benzamide derivative affects some biochemical parameters (total protein, ALT, bilirubin, glucose and urea), some hematological parameters (red blood cells count, hemoglobin, hematocrit, platelets count, thrombocrit, mean corpuscular hemoglobin concentration and platelet-large-cell ratio) and contributes to the appearance of glucose in the urine in females taking a dose of 100 mg/kg, in males glucose was not detected. The study of daily metabolic parameters did not reveal any statistically significant deviations compared with the control group. Thus, the compound 3-[4-(2-fluorobenzoyl)piperazine-1-carbonyl)-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl]benzamide does not cause the death of animals and detectable toxic effects and therefore is promising for further preclinical studies.

Keywords: 3-[4-(2-fluorobenzoyl)piperazine-1-carbonyl]-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl]benzamide, benzamide derivative, subacute toxicity, rats.

ЛИТЕРАТУРА

1. O'Neill, J. Tackling drug-resistant

infections globally: final report and recommendations / J. O'Neill. – London: Review on Antimicrobial Resistance, 2016. – 80 p.

2. Николенко, Н. Ю. Фармакоэпидемиология и фармакоэкономика туберкулеза с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя / Н. Ю. Николенко, Д. А. Кудлай, Н. П. Докторова // Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. – 2021. – Т. 14, № 2. – С. 235–248.

3. 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: рецензир. ежегод. сб. науч. трудов / редкол.: С. П. Рубникович, В. А. Филонюк. – Минск: Бел. гос. мед. ун-т, 2021. – Вып. 11. – С. 540–546.

4. Сечко, О. Г. Оценка острой токсичности 3-[4-(2-фторбензоил) пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)-фенил] бензамида / О. Г. Сечко, В. М. Царенков // Вестн. Витебского гос. мед. ун-та. – 2022. – Т. 21, № 4. – С. 89–99.

5. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes [Electronic resource] / Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – Mode of access: <https://rm.coe.int/168007a67b>. – Date of access: 14.06.2022.

6. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. – Санкт-Петербург: Объединение специалистов по работе с лабораторными животными, 2012. – 48 с.

7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / отв. ред. Р. У. Хабриев. – Москва: Медицина, 2005. – 832 с.

8. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур: ГОСТ 33215-2014. – Введ. 01.07.16. – Москва: Стандартинформ, 2019. – 13 с.

9. Существующие требования и подходы к дозированию лекарственных средств лабораторным животным / А. В. Рыбакова [и др.] // Вестн. Науч. центра экспертизы средств мед. применения. – 2018. – Т. 8, № 4 – С. 207–217.

REFERENCES

1. O'Neill J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. London, England: Review on Antimicrobial Resistance; 2016. 80 p

2. Nikolenko N Yu, Kudlai DA, Doktorova NP.

Pharmacoepidemiology and pharmacoconomics of multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis. Farmakoekonomika. Sovremennaja farmakoekonomika i farmakoepidemiologija. 2021;14(2):235–48. doi: 10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2021.089. (In Russ.)

3. Sechko OG, Slabko IN, Tsarenkov VM. Antituberculous activity of benzamide and benzoic acid derivatives. V: Rubnikovich SP, Filoniuk VA, redaktsionnaia kollegiia. BGMU v avangarde meditsinskoj nauki i praktiki: retsenzir ezhegod sb nachn trudov. Minsk, RB: Bel gos med un-t; 2021. Vyp. 11. s. 540–6. (In Russ.)

4. Sechko OG, Tsarenkov VM. Assessment of the acute toxicity of 3-[4-(2-fluorobenzoyl) piperazine-1-carbonyl]-N-[3-(trifluoromethyl)-phenyl]benzamide. Vestn Vitebskogo gos med un-ta. 2022;21(4):89–99. doi: 10.22263/2312-4156.2022.4.89. (In Russ.)

5. Council of Europe. European Convention for the protection of vertebrate animals for experimental and other scientific purposes [Electronic resource]. Strasbourg, France; 1986. Mode of access: <https://rm.coe.int/168007a67b>. Date of access: 14.06.2022

6. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Sankt-Peterburg, RF: Ob»edinenie spetsialistov po rabote s laboratornymi zhivotnymi; 2012. 48 s. (In Russ.)

7. Khabriev RU, redaktor. Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Moskva, RF: Meditsina; 2005. 832 s. (In Russ.)

8. Gosudarstvennye standarty Rossii. GOST 33215-2014. Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for equipping premises and organizing procedures. Vved 2016 Ijul' 1. Moskva, RF: Standartinform; 2019. 13 s. (In Russ.)

9. Rybakova AV, Makarova MN, Kukhareno AE, Vichare AS, Riuffer FR. Existing requirements and approaches to the dosing of drugs in laboratory animals. Vedomosti Nauch tsentra ekspertizy sredstv med primeneniia. 2018;8(4):207–17. doi: 10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217. (In Russ.)

Адрес для корреспонденции:

220116, Республика Беларусь,
г. Минск, пр. Дзержинского, 83,
УО «Белорусский государственный
медицинский университет»,
кафедра фармацевтической технологии,
e-mail: SechkoOG@bsmu.by,
Сечко О. Г.

Поступила 14.12.2022 г.