

DOI 10.52368/2078-0109-2024-60-4-10-13
УДК 615.015.3:615.28:636.028

ПАРАМЕТРЫ ТОКСИЧНОСТИ АНТИМИКРОБНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ЛЕВОФЛОКСАЦИНА НА БЕЛЫХ МЫШАХ

Бабушкина А.Е. ORCID ID 0009-0009-3515-1259, Ческидова Л.В. ORCID ID 0000-0003-0196-1754,
Корчагина А.А. ORCID ID 0000-0002-8561-417X, Брюхова И.В. ORCID ID 0000-0003-2251-0581,
Близнецова Г.Н. ORCID ID 0000-0002-1042-9279

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», г. Воронеж, Российская Федерация

*В статье представлены результаты исследования острой токсичности нового антимикробного препарата на основе левофлоксацина. Эксперимент проведен на белых лабораторных мышах, которым вводили исследуемый препарат однократно в разных дозах внутривентрикулярно и подкожно. В результате исследования были установлены параметры токсичности, что позволило отнести новое лекарственное средство к 4 классу опасности. LD₅₀ при подкожном введении для белых мышей составила 13126,57±1537,49 мг/кг. **Ключевые слова:** острая токсичность, параметры токсичности, LD₅₀, белые мыши.*

TOXICITY PARAMETERS OF A COMPLEX ANTIMICROBIAL DRUG BASED ON LEVOFLOXACIN USED ON WHITE MICE

Babushkina A.E., Cheskidova L.V., Korchagina A.A., Bryukhova I.V., Bliznetsova G.N.
FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy",
Voronezh, Russian Federation

*The article presents the results of a study of the acute toxicity of a new antimicrobial drug based on levofloxacin. The trial was conducted on white laboratory mice, which were administered the drug under investigation once at different doses intragastrically and subcutaneously. As a result of the study, toxicity parameters were established, which made it possible to classify the new drug as Hazard class 4. The LD₅₀ for subcutaneous administration for white mice was 13126.57±1537.49 mg/kg. **Keywords:** acute toxicity, toxicity parameters, LD₅₀, white mice.*

Введение. Открытие антибиотиков и разработка синтетических антибактериальных препаратов стало настоящей фармакологической революцией. Однако, несмотря на это, распространенность инфекционных заболеваний продолжает расти из-за чрезвычайной универсальности и адаптивности микроорганизмов, что позволяет им вырабатывать механизмы резистентности и защищать себя от многих антимикробных соединений [1]. Бактерии, устойчивые к лекарственным средствам, представляют собой серьезную проблему общественного здравоохранения во всем мире. Поскольку распространение патогенов с множественной лекарственной устойчивостью опережает открытие новых антибактериальных препаратов, важно исследовать взаимосвязь между структурой и активностью уже известных бактерицидных средств [2]. Хинолоны и фторхинолоны являются бактерицидными антибиотиками широкого спектра действия; в настоящее время доступно четыре поколения, все они активны в отношении многих грамотрицательных бактерий [3]. Мишенью для фторхинолонов служат бактериальные ферменты ДНК-гираза (тетрамер, состоящий из двух А- и двух В-полипептидных субъединиц) и топоизомераза IV (тетрамер, состоящий из двух С- и двух Е-субъединиц). Эти ферменты отвечают за репликацию, генетическую рекомбинацию и восстановление ДНК большинства грамположительных, грамотрицательных и атипичных бактерий, а также ингибируют их рост от 2 до 6 часов после воздействия [4-6]. Химиотерапевтические средства этой группы одобрены для применения и используются как в гуманной, так и в ветеринарной медицине, однако их токсические эффекты до сих пор не полностью изучены. Поэтому при разработке новых лекарственных препаратов необходимо проводить доклинические испытания для определения профиля токсичности, безопасности и целесообразности применения, исходя из потенциальной пользы по отношению к возможным рискам [7, 8].

Цель исследования состояла в определении параметров токсичности нового препарата на основе левофлоксацина при внутривентрикулярном и подкожном введении белым мышам.

Материалы и методы исследований. Для проведения опытов по определению острой токсичности препарата были использованы белые аутбредные мыши обоего пола разведения ФГБНУ «ВНИВИПФит». Подопытные животные содержались в стандартных условиях вивария (температура воздуха +18-23°C, относительная влажность 45-60%). Доступ к воде и корму был свободным. Все процедуры с животными, предусмотренные в исследовании, были предварительно рассмотрены и одобрены на заседании биоэтической комиссии ФГБНУ «ВНИВИПФит» до начала работы и соответствовали правилам, принятым в «Европейской конвенции о защите

позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» (ETS 123, Страсбург, 1986).

В первой серии опытов токсичность препарата определяли при пероральном введении. С этой целью было сформировано 6 групп белых мышей по $n=8$ в каждой, которым вводили препарат однократно в дозе от 1000 мг/кг до 21000 мг/кг внутривентриально с помощью зонда. Объем препарата был одинаковым в каждой группе и составил 0,5 мл (максимально допустимый объем для перорального введения для животных массой 20-22 г). До необходимого объема препарат разводили вазелиновым маслом.

Во второй серии опытов препарат инъецировали подкожно. Для этого было сформировано 8 групп белых мышей (по $n=8$ в каждой) массой 23-25 г, которым вводили препарат однократно в дозе от 1000 мг/кг до 25500 мг/кг в объеме 1,0 мл. До необходимого объема препарат разводили вазелиновым маслом.

В течение первых суток после введения препарата осуществляли непрерывное наблюдение за животными. В дальнейшем на протяжении четырнадцати дней дважды в сутки оценивали состояние белых мышей. Отмечали изменения общего статуса, поведения, нервномышечных и вегетативных функций, шерстного покрова, а также потребления корма и воды. Особое внимание уделяли выявлению и оценке тяжести, продолжительности и времени выздоровления или гибели животных, проявляющих признаки токсикоза. Мышей, павших с признаками отравления препаратом, подвергали патологоанатомическому вскрытию. После завершения эксперимента проводили эвтаназию и аутопсию оставшихся животных. Внутренние органы подопытных животных фиксировали для проведения гистологического исследования.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пробит-анализа по методу Прозоровского (нормальное распределение), с помощью пакета программ StatPlus (AnalystSoft).

Результаты исследований. В первой серии опытов не было достигнуто 100% летальности, поэтому значение LD_{50} при внутривентриальном введении не установлено. Максимальная переносимая доза, при которой не было выявлено явлений интоксикации у белых мышей, составила 5000 мг/кг. Признаки отравления проявлялись при введении препарата в дозировке, начиная с 9000 мг/кг. Отмечали заторможенность движений, вынужденное положение тела в пространстве, отказ от корма. Как правило, в течение первых двух суток после введения препарата симптоматика либо исчезала, либо наступала гибель животных. Стоит отметить, что в течение эксперимента не было установлено половых отличий на введение изучаемого препарата.

Так как LD_{50} при внутривентриальном введении превышает 5000 мг/кг, изучаемое лекарственное средство относится к IV классу опасности - малотоксичные вещества по ГОСТ 12.1.007-76 и к V классу токсичности - по классификации Hodge и Sterner [9] и GHS [10].

При патологоанатомическом вскрытии павших в первые сутки животных после перорального введения в желудке обнаруживали остаточные количества препарата. При этом слизистая органа не имела патологических изменений, отмечена кровенаполненность сосудов желудочно-кишечного тракта. При гибели животных в последующие сутки не было зафиксировано специфической картины интоксикации.

В результате проведения второй серии экспериментов были определены следующие параметры токсичности исследуемого препарата, которые представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Параметры токсичности исследуемого препарата для белых мышей

Показатель	Доза, мг/кг
LD_{10}	4313,57
LD_{16}	6250,70
LD_{50}	13126,57
Стандартная ошибка LD_{50}	1537,49
LCL LD_{50}	7655,99
UCL LD_{50}	18597,15
LD_{84}	20002,44
LD_{90}	21939,57
LD_{100}	23440,37

Как следует из представленных в таблице данных, доза, повлекшая летальность у половины подопытных белых мышей при подкожном введении, составила $13126,57 \pm 1537,49$ мг/кг. Максимальная переносимая доза, при которой животные не реагировали на введение, составила 4500 мг/кг. Симптомы отравления были отмечены в течение первых суток после введения препарата в дозе 8000 мг/кг: животные отказывались от воды и корма, были угнетены. В основном гибель подопытных мышей регистрировали в течение первых 24-48 часов после инъекции.

При подкожном введении у павших животных обнаруживали остаточные количества препарата в месте инъекции, при этом прилежащие ткани без патологических изменений. Упитанность животных была удовлетворительной, слизистые оболочки бледно-розовые, шерстный покров ровный, чистый. При аутопсии обнаружили умеренно-плотное физиологических размеров сердце; розовые легкие; равномерно окрашенную, не увеличенную с острыми краями печень; ровные и блестящие почки плотной консистенции с легко снимающейся капсулой, на разрезе хорошо выражена граница коркового и мозгового вещества; темного цвета, плотную, не увеличенную селезенку; кишечник без изменений, в толстом отделе сформированные каловые массы. Гистологическое исследование не выявило нарушений структурной организации внутренних органов после перорального и подкожного введения препарата.

Заклучение. В ходе исследования на белых аутбредных мышах были определены параметры токсичности нового препарата на основе левофлоксацина. Установлено, что новое лекарственное средство по ГОСТ 12.1.007-76 относится к IV классу опасности - малоопасные вещества. Максимально переносимой дозой, которая не оказывает явного нежелательного эффекта, при однократном внутрижелудочном и подкожном введении можно считать 5000 мг/кг и 4500 мг/кг соответственно. При этом ЛД₅₀ для белых мышей при подкожной инъекции составила 13126,57±1537,49 мг/кг. Клиническая картина интоксикации у подопытных животных была сходной, а морфологическая картина при патологоанатомическом вскрытии однотипна. Гистологическими исследованиями не обнаружено нарушений структурной организации внутренних органов мышей, павших или выведенных из эксперимента после его завершения. Таким образом, доказана безопасность нового антимикробного препарата на основе левофлоксацина при однократном пероральном введении на аутбредных мышах обоего пола, что позволяет рекомендовать его для дальнейшего изучения.

Conclusion. The toxicity parameters of a new drug based on levofloxacin were determined in the course of study for white outbred mice. It was established that the new drug, belongs to hazard class IV – low-hazard substances according to GOST 12.1.007-76. The maximum tolerated dose which does not have an obvious adverse effect, with a single intragastric and subcutaneous administration can be considered 5000 mg/kg and 4500 mg/kg, respectively. At the same time, LD₅₀ for white mice with subcutaneous injection was 13126.57±1537.49 mg/kg. The clinical picture of intoxication in experimental animals was similar, and the morphological picture during the pathoanatomical autopsy was of the same type. Histological studies did not reveal any disturbances in the structural organization of the internal organs of mice that died or were withdrawn from the experiment after its completion. Thus, the safety of the new antimicrobial drug based on levofloxacin has been proven with a single oral administration in outbred mice of both sexes, which makes it possible to recommend the drug for further study.

Список литературы. 1. *Antibacterial and pharmacological evaluation of fluoroquinolones: a chemoinformatics approach* / D. Sood, N. Kumar, A. Singh [et al.] // *Genomics Inform.* – 2018. – Vol.16 (3). – P. 44–51. – doi: 10.5808/GI.2018.16.3.44 2. *The potential role of Fluoroquinolones in the management of Covid-19 a rapid review* / Zoheir A. Damanhour, Huda M. Alkreathy, Ahmed S. Ali, Shahid Karim // *J Adv Pharm Edu Res.* – 2021. – Vol.11 (1). – P. 128–134. – doi.org/10.51847/FE1iOIPtwD 3. Антропова, Г. А. Фармацевтическое информирование: фокус на фторхинолоны / Г. А. Антропова, Т. И. Оконенко // *Вестник НовГУ. Сер. Медицинские науки.* – 2021. – №3 (124). – С. 65–72. – DOI: doi.org/10.34680/2076-8052.2021.3(124).65-72 4. Borrel, A. *Cheminformatics Analysis of Fluoroquinolones and their Inhibition Potency Against Four Pathogens* / A. Borrel, C. Melander, D. Fourches // *Molecular Informatics.* – 2021. – Vol. 40, №. 5. – P. 2000215. – doi.org/10.1002/minf.202000215. 5. *Quantitative structure–activity relationship methods in the discovery and development of antibacterials* / B. Suay-Garcia, J. I. Bueso-Bordils, A. Falcó [et al.] // *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science.* – 2020. – Vol. 10, №. 6. – P. e1472. – doi.org/10.1002/wcms.1472 6. *Сравнительная характеристика токсических эффектов фторхинолонов* / О. И. Авдеева, М. Н. Макарова, В. Г. Макаров [и др.] // *Фармация.* – 2017. – Т. 7, №. 66. – С. 34–39. 7. Pauletto, M. *A Review on Fluoroquinolones' Toxicity to Freshwater Organisms and a Risk Assessment* / M. Pauletto, M. De Liguoro // *Journal of Xenobiotics.* – 2024. – Vol. 14, №. 2. – P. 717–752. – doi.org/10.3390/jox14020042 8. *Fluoroquinolones: old drugs, putative new toxicities* / C. Bove, R. A. Baldock, O. Champigneulle [et al.] // *Expert Opinion on Drug Safety.* – 2022. – Vol. 21, №. 11. – P. 1365–1378. – doi.org/10.1080/14740338.2022.2147924 9. Hodge, H. C. *Clinical Toxicology of Commercial Products. Acute Poisoning* / H. C. Hodge, R. E. Gosselin, R. P. Smith. – Ed. IV. – Baltimore, 1975. – 427 p. 10. *Globally Harmonised System of classification and labelling of chemicals (GHS).* – Fifth revised edition. – United Nations : New York and Geneva, 2013. – 530 p.

References. 1. *Antibacterial and pharmacological evaluation of fluoroquinolones: a chemoinformatics approach* / D. Sood, N. Kumar, A. Singh [et al.] // *Genomics Inform.* – 2018. – Vol.16 (3). – P. 44–51. – doi: 10.5808/GI.2018.16.3.44 2. *The potential role of Fluoroquinolones in the management of Covid-19 a rapid review* / Zoheir A. Damanhour, Huda M. Alkreathy, Ahmed S. Ali, Shahid Karim // *J Adv Pharm Edu Res.* – 2021. – Vol.11 (1). – P. 128–134. – doi.org/10.51847/FE1iOIPtwD 3. Antropova, G. A. *Farmaceuticheskoe informirovanie: fokus na fforhinolony* / G. A. Antropova, T. I. Okonenko // *Vestnik NovGU. Ser. Medicinskie nauki.* – 2021. – №3 (124). – S. 65–72. – DOI: doi.org/10.34680/2076-8052.2021.3(124).65-72 4. Borrel, A. *Cheminformatics Analysis of Fluoroquinolones and their Inhibition Potency Against Four Pathogens* / A. Borrel, C. Melander, D.

Fourches // *Molecular Informatics*. – 2021. – Vol. 40, №. 5. – P. 2000215. – doi.org/10.1002/minf.202000215. 5. Quantitative structure–activity relationship methods in the discovery and development of antibacterials / B. Suay-Garcia, J. I. Bueso-Bordils, A. Falcó [et al.] // *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*. – 2020. – Vol. 10, №. 6. – P. e1472. – doi.org/10.1002/wcms.1472 6. Sravnitel'naya karakteristika toksicheskikh effektov ftorhinolonov / O. I. Avdeeva, M. N. Makarova, V. G. Makarov [i dr.] // *Farmaciya*. – 2017. – T. 7, №. 66. – S. 34–39. 7. Pauletto, M. A Review on Fluoroquinolones' Toxicity to Freshwater Organisms and a Risk Assessment / M. Pauletto, M. De Liguoro // *Journal of Xenobiotics*. – 2024. – Vol. 14, №. 2. – P. 717–752. – doi.org/10.3390/jox14020042 8. Fluoroquinolones: old drugs, putative new toxicities / C. Bove, R. A. Baldock, O. Champigneulle [et al.] // *Expert Opinion on Drug Safety*. – 2022. – Vol. 21, №. 11. – P. 1365–1378. – doi.org/10.1080/14740338.2022.2147924 9. Hodge, N. S. *Clinical Toxicology of Commercial Products. Acute Poisoning* / N. S. Hodge, R. E. Gosselin, R. P. Smith. – Ed. IV. – Baltimore, 1975. – 427 p. 10. *Globally Harmonised System of classification and labelling of chemicals (GHS)*. – Fifth revised edition. – United Nations : New York and Geneva, 2013. – 530 p.

Поступила в редакцию 18.10.2024.

DOI 10.52368/2078-0109-2024-60-4-13-17

УДК 636.5.034

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АНАТОМИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ И РОСТА ЯИЧНИКА У АУТОСЕКСНОГО ГИБРИДА ЯПОНСКОГО ПЕРЕПЕЛА

Васютёнок В.И., Федотов Д.Н. ORCID ID 0000-0003-3366-8704

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

*Целью исследования явилось определение закономерности роста и анатомической трансформации яичника у аутосексного гибрида японского перепела в постовариальном онтогенезе. При проведении научных исследований было использовано 8 возрастных групп – от суточного до 365-суточного возраста перепелов. У перепелов непарный левый яичник, который располагается в поясничной области грудобрюшной полости на короткой брыжейке и сверху прикрыт петлями кишечника, а своей дорсальной частью прилегает к переднему полюсу левой почки. К 155-суточному возрасту весовые и линейные параметры яичника достигают максимальных значений. **Ключевые слова:** перепела, гибрид, яичник, рост.*

AGE ATTRIBUTED PECULIARITIES OF THE ANATOMICAL STRUCTURE AND GROWTH OF THE OVARY IN AUTOSEX HYBRID OF JAPANESE QUAIL

Vasiutsionak V.I., Fiadotau D.N.

EE “Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine”, Vitebsk, Republic of Belarus

*The purpose of the study was to determine the patterns of growth and anatomical transformation of the ovary in the autosex hybrid of Japanese quail in post-ovarian ontogenesis. For the research, 8 age-grade groups of quails were used – from one day to 365 days of age. Quails have an unpaired left ovary, which is located in the lumbar region of the thoraco-abdominal cavity on a short mesentery, and from above it is covered by intestinal loops, and its dorsal part is adjacent to the anterior pole of the left kidney. By 155 days of age, the weight and linear parameters of the ovary reach their maximum values. **Keywords:** quail, hybrid, ovary, growth.*

Введение. Проблема обеспечения продовольственной безопасности имеет первостепенное значение для Республики Беларусь. Особое место в решении этой задачи принадлежит птицепродуктовому комплексу. В кризисной ситуации актуализируется проблема повышения эффективности производства яиц птицы и обеспечения устойчивого расширенного воспроизводства, интенсивного роста отрасли в промышленных масштабах. Проблема расширения ассортимента продуктов птицеводства должна решаться более широким использованием нетрадиционных видов птицы, одним перспективным из которых являются перепела. Перепел является скороспелым представителем, его яичная и мясная продукция обладает отличными диетическими качествами, гипоаллергенностью, экологической безопасностью и пользуется возрастающим спросом у потребителей.

Содержанием перепелов и получением от них продукции на птицефабриках в Республике Беларусь занимается ОАО «Солигорская птицефабрика», ОАО «Птицефабрика Городок», ОАО «1-я Минская птицефабрика». Эффективная селекционная работа в промышленном перепеловодстве на современном этапе его развития невозможна без комплексного использования в нем анатомических и гистологических методов исследования органов репродуктивной системы [2]. Профилактика болезней с повышением яичной продуктивности перепелов будет недостаточной без разработки научно обоснованной системы знания возрастной морфологической нормы их яичников.