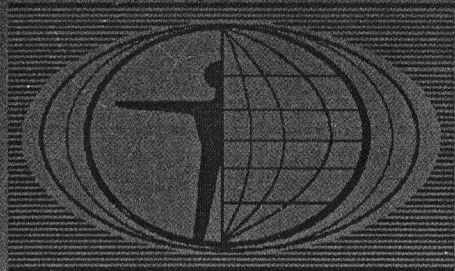


Российский регистр потенциально опасных



химических и биологических веществ

# ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

**3**

**МАЙ – ИЮНЬ**

**2008**

ISSN 0869-7922

B.A.Katsnelson, O.G.Makeyev, N.I.Kochneva, T.D.Degtyaryova, L.I.Privalova, O.Yu.Beresneva, T.V.Bushuyeva, Yu.L.Starovoytenko, V.A.Bukhanzev, V.V.Minin, O.Ye.Yeryomenko, Ye.P.Kireyeva

### CONTROLLED ASSAYS OF A COMPLEX OF BIOPROTECTIVE PREPARATIONS ON WOMEN-VOLUNTEERS TO PROTECT THE ORGANISM FROM ECOLOGICALLY-INDUCED TOXIC AND CARCINOGENIC RISK

Medical Research Centre for Prophylaxis and Health Protection of Industrial Workers, Sverdlovsk Regional Department of Rospotrebnadzor, Laboratory of Molecular Medical Technologies of the Siberian Scientific Center of the Russian Academy of Medical Sciences and Sverdlovsk Regional Government of the Ural State Medical Academy, Ural State Medical Academy, Ekaterinburg

A group of high oncological risk was formed basing on the analysis of results of a purposefully conducted inquiring among women's population taking into account previously established population and individual risk factors of the development lung, intestine and mammary gland cancer. Basing on target-specific medical examination, women not having oncologic diseases were selected among this group for testing effectiveness of a bio-prophylactic complex (BPC) that was previously approved in a toxicological experiment. According to a number of functional, immunologic and cytogenetic indicators in the group to whose members BPC was administrated, a positive dynamics was revealed which was not noted or was less expressed in the control group being observed in parallel. As to tests for strengthening of DNA reparation, positive dynamics only took place in the main group which allows to prognosticate not only antitoxic but also anticarcinogenic efficacy of BPC tested.

УДК 615.214.22.099

В.В.Зобов, А.В.Ланцова, А.В.Зобов, В.Д.Акамсин, И.В.Галяметдинова, С.Г.Фаттахов, Р.Х.Гиниятуллин, С.М.Горбунов, В.С.Резник

### ТОКСИЧНОСТЬ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ШИРОТА ЗАМЕЩЕННЫХ 3-( $\omega$ -БЕНЗИЛДИЭТИЛАММОНИОАЛКИЛ)-1,6-ДИМЕТИЛУРАЦИЛБРОМИДОВ И ИХ АНАЛОГОВ

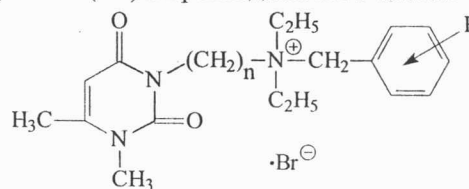
Институт органической и физической химии им. А.Е.Арбузова Казанского научного центра РАН

Ряд замещенных 3-( $\omega$ -бензилдиэтиламмониоалкил)-1,6-диметилурацилбромидов и N-(аммиопентильных)-производных  $\alpha,\omega$ -бисурацилилалканов с антихолинэстеразным типом действия «высокотоксичны» относительно мышей и «малотоксичны» или «практически нетоксичны» относительно дафний. В тестах «бег на третбане» и «вращающийся стержень» (мышы, в/б) вещества, у которых 6-метилурациловый фрагмент удален от урацилового на расстояние 3–6 метиленовых групп, более фармакологически и экологически безопасны, чем прозерин и BW284c51.

**Ключевые слова:** ингибиторы ацetylхолинэстеразы, токсичность, терапевтическая широта.

**Введение.** В продолжение исследований [1–3], направленных на выявления среди моноаммониевых ингибиторов холинэстераз веществ с высокими показателями как «фармакологической» («терапевтическая широта» =  $DL_{50}/DE_{50}$ ), так и «экологической» ( $CL_{50}$ , дафнии) безопасности нами был синтезирован и изучен ряд замещенных 3-( $\omega$ -бензилдиэтиламмониоалкил)-1,6-диметилурацилбромидов (соединения I–III), а также ряд N-(аммиопентильных)-производных  $\alpha,\omega$ -бисурацилилалканов, являющихся аналогами 3-( $\omega$ -бензилдиэтиламмониоалкил)-1,6-диметилурацилбромидов, имеющих второй урациловый цикл (соединения IV–XIV) или замещенный фенильный цикл (соединение XV).

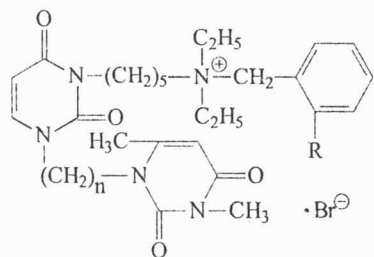
Важно было установить, насколько меняются показатели токсичности ( $DL_{50}$ ,  $CL_{50}$ ), избирательности влияния на локомоторную функцию ( $DE_{50}$ ) и безопасности ( $DL_{50}/DE_{50}$ ) соединений при введении объемного радикала по первому атому азота ( $N^1$ ) пиримидинового цикла.



соединения I–III

n = 5 (I, II), 6 (III);

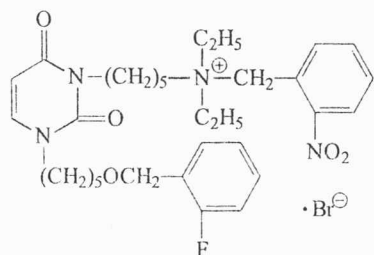
R = o-NO<sub>2</sub> (III); 2-NO<sub>2</sub>, 6-F (I); 2-NO<sub>2</sub>, 4-N<sub>3</sub> (II).



соединения IV-XIV

n = 3 (IV, V), 4 (VI, VII), 5 (VIII, IX), 6 (X, XI), 7 (XII, XIII), 8 (XIV);

R = CN (IV, VII, VIII, X, XII), NO<sub>2</sub> (VI, IX, XI, XIII, XIV), CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> (V).



соединение XV

Химические названия синтезированных и изученных соединений:

1,6-диметил-3-[5-(диэтил-2-нитро-6-фторбензиламмоний)пентил]урацилбромид (I);

1,6-диметил-3-[5-(диэтил-2-нитро-4-азидобензиламмоний)пентил]урацилбромид (II);

1,6-диметил-3-[6-(диэтил-2-нитробензиламмоний)гексил]урацилбромид (III);

1-[3-(3,6-диметилаурацил-1-ил)пропил]-3-[5-(диэтил-2-цианбензиламмоний)пентил]урацилбромид (IV);

1-[3-(3,6-диметилаурацил-1-ил)пропил]-3-[5-(диэтил-2-метоксиметилбензиламмоний)пентил]урацилхлорид (V);

1-[4-(3,6-диметилаурацил-1-ил)бутил]-3-[5-(диэтил-2-нитробензиламмоний)пентил]урацилбромид (VI);

1-[4-(3,6-диметилаурацил-1-ил)бутил]-3-[5-(диэтил-2-цианбензиламмоний)пентил]урацилбромид (VII);

1-[5-(3,6-диметилаурацил-1-ил)пентил]-3-[5-(диэтил-2-цианбензиламмоний)пентил]урацилбромид (VIII);

1-[5-(3,6-диметилаурацил-1-ил)пентил]-3-[5-(диэтил-2-нитробензиламмоний)пентил]урацилбромид (IX);

1-[6-(3,6-диметилаурацил-1-ил)гексил]-3-[5-(диэтил-2-цианбензиламмоний)пентил]урацилбромид (X);

1-[6-(3,6-диметилаурацил-1-ил)гексил]-3-[5-(диэтил-2-нитробензиламмоний)пентил]урацилбромид (XI);

1-[7-(3,6-диметилаурацил-1-ил)гептил]-3-[5-(диэтил-2-цианбензиламмоний)пентил]урацилбромид (XII);

1-[7-(3,6-диметилаурацил-1-ил)гептил]-3-[5-(диэтил-2-нитробензиламмоний)пентил]урацилбромид (XIII);

1-[8-(3,6-диметилаурацил-1-ил)октил]-3-[5-(диэтил-2-нитробензиламмоний)пентил]урацилбромид (XIV);

1-[5-(2-фторбензилокси)пентил]-3-[5-(диэтил-2-нитробензиламмоний)пентил]урацилбромид (XV).

**Материалы и методы исследования.** Острую токсичность соединений при их внутривенном (в/в) введении определяли на нелинейных белых мышах обоего пола массой 19±2 г, а также на лабораторной культуре дафний *Daphnia magna* Straus в возрасте 18±6 ч. Для установления среднесмертельной дозы DL<sub>50</sub> (в мкмоль/кг) каждое соединение вводили 4 группам мышей (по 10 мышей на каждую дозу; n = 40); время наблюдения – 72 ч. Для установления среднесмертельной концентрации CL<sub>50</sub> (в мкмоль/л) 3 группы дафний помещали в растворы тестируемых соединений (по 30 дафний на каждую концентрацию; n = 90); время наблюдения – 48 ч. Предварительно тестировалась чувствительность культуры дафний к K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>; величина CL<sub>50</sub><sup>24</sup> ч K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> находилась в пределах нормы (1,7 мг/л) [4]. По величине CL<sub>50</sub> на дафниях выносили первичное суждение об уровне «экологической безопасности» соединений. Симптоматика отравления соединениями при внутривенном их введении фиксировалась на кроликах-самцах породы «советская шиншилла» массой 3,0–3,5 кг.

В качестве показателей избирательности действия соединений на нервно-мышечную передачу были избраны среднеэффективные миорелаксантные дозы (DE<sub>50</sub>), полученные в тесте «бег на тредбане» (Treadmill, Nihon Kohden STS-7500A/CC-730DA, Япония; скорость протяжки ленты 1 км/ч) [5] и в тесте «вращающийся стержень» (Rota-rod treadmill; Ugo Basile, Италия; скорость вращения стержня 6 оборотов/мин) [6]. Для установления значений DE<sub>50</sub> каждое соединение вводили внутривенно 4 группам предварительно тренированных мышей (22,0±2,0 г; по 8 мышей на каждую дозу; n = 32) за 5 мин до начала выполнения физической нагрузки. В качестве критерия терапевтической широты (или «фармакологической безопасности») соединений использовался параметр DL<sub>50</sub>/DE<sub>50</sub>. Контрольным мышам вводился физиологический раствор. Препаратами сравнения служили антихолинэстеразные средства – прозерина метилсульфат и BW284c51 (избирательный ингибитор ацетилхолинэстеразы; Sigma).

Обработку результатов исследования проводили методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента, а также с помощью программы ToxCalc™ v.5.0.23F (Tidepool Scientific Software; U.S. Environmental Protection Agency).

**Результаты и обсуждение.** Из данных табл. 1 следует, что соединения I-XV по данным опытов на мышах могут быть отнесены к высокотоксичным [7]. На дафниях соединения I, II, IV-VIII, X, XII-XV – малотоксичны или практически нетоксичны [8] (табл. 2).

В картине острого действия эффективных доз соединений у животных доминировало холино-

миметическое гипервозбуждение. Выраженные антихолинэстеразные проявления (мышечные фибрилляции, подергивания и др.) не позволяли мышам полноценно выполнять бег на третбане. Более того, попытки к выполнению физической нагрузки токсифицированными мышами в тесте «бег на третбане», в отличие от теста «вращающийся стержень», приводили к усилению миорелаксантного эффекта соединений в отношении задних конечностей как по интенсивности, так и по длительности («use-dependent effect»).

По миорелаксантной активности и терапевтической широте действия соединения I-III уступают своему орто-нитробензильному анало-

Таблица 1

Биологическая активность соединений I-XV в опытах на мышах

Соединение	DL <sub>50</sub> , мкМ, в/б	Миорелаксантная активность, DE <sub>50</sub> , мкМ, в/б		Терапевтическая широта, DL <sub>50</sub> /DE <sub>50</sub>	
		«бег на третбане»	«вращ. стержень»	«бег на третбане»	«вращ. стержень»
I	2,33 (2,01÷2,71)	0,29 (0,25÷0,35)	0,39 (0,33÷0,45)	8,03* (6,01÷9,99)	5,97 (4,60÷7,40)
II	3,71** (3,17÷4,35)	0,28 (0,24÷0,33)	0,37 (0,31÷0,44)	13,25* (10,03÷16,63)	10,03* (7,52÷12,48)
III	9,78** (8,65÷11,05)	1,17** (1,03÷1,34)	1,37** (1,20÷1,56)	8,36* (6,74÷9,93)	7,14 (5,78÷8,51)
IV	1,39 (1,22÷1,59)	0,09** (0,08÷0,11)	0,11** (0,09÷0,12)	15,44* (11,81÷18,19)	12,64* (10,22÷15,50)
V	1,37 (1,17÷1,60)	0,16* (0,14÷0,19)	0,24 (0,20÷0,28)	8,56* (6,33÷10,67)	5,71 (4,26÷7,07)
VI	1,10* (0,95÷1,28)	0,07** (0,06÷0,09)	0,07** (0,06÷0,09)	15,71* (11,39÷18,61)	15,71** (11,50÷18,50)
VII	0,91** (0,78÷1,05)	0,09** (0,08÷0,11)	0,11** (0,09÷0,12)	10,11* (7,67÷12,33)	8,27 (6,57÷10,57)
VIII	1,19* (1,05÷1,34)	0,07** (0,06÷0,08)	0,07** (0,06÷0,09)	17,00** (12,94÷19,06)	17,00** (12,82÷19,18)
IX	1,29* (1,14÷1,46)	0,09** (0,08÷0,10)	0,10** (0,09÷0,12)	14,33* (12,13÷17,87)	12,90* (10,21÷15,51)
X	4,50** (3,91÷5,17)	0,20* (0,17÷0,24)	0,15** (0,13÷0,17)	22,50** (17,12÷27,16)	30,00** (24,20÷37,80)
XI	3,66** (3,19÷4,21)	0,20* (0,17÷0,23)	0,28 (0,24÷0,33)	18,30** (14,50÷22,64)	13,07* (10,15÷15,85)
XII	1,78 (1,54÷2,04)	0,21* (0,18÷0,25)	0,36 (0,31÷0,41)	8,48* (6,51÷10,16)	4,94 (3,90÷6,10)
XIII	0,75** (0,62÷0,90)	0,19* (0,17÷0,22)	0,14** (0,11÷0,17)	3,95* (2,89÷4,82)	5,36 (3,83÷6,97)
XIV	2,58 (2,18÷3,04)	0,54* (0,46÷0,65)	0,68** (0,57÷0,81)	4,78* (3,51÷5,99)	3,79* (2,81÷4,79)
XV	2,23 (1,89÷2,63)	0,24 (0,20÷0,29)	0,15* (0,13÷0,18)	9,29* (6,83÷11,67)	14,87** (10,93÷18,67)
Прозерин	1,53 (1,34÷1,74)	0,39* (0,34÷0,45)	0,30 (0,26÷0,34)	3,92* (3,11÷4,73)	5,10 (4,05÷6,15)
BW284c51	2,12 (1,86÷2,42)	0,21* (0,18÷0,24)	0,25 (0,22÷0,29)	10,10* (8,07÷12,13)	8,48 (6,67÷10,29)

Различия статистически значимы (p < 0,05) по отношению к прозерину (\*), BW284c51 (\*)

Таблица 2

Токсичность соединений I, II, IV-VIII, X, XII-XV  
в опытах на дафниях *Daphnia magna*

Соединение	CL <sub>50</sub> <sup>48</sup> ч (мкМ)
I	94,21* (79,17 ÷ 112,11)
II	54,09* (43,98 ÷ 66,54)
IV	230,23** (196,78 ÷ 269,37)
V	220,01** (184,88 ÷ 261,81)
VI	392,25** (321,52 ÷ 478,55)
VII	756,24** (646,36 ÷ 884,80)
VIII	680,55** (581,67 ÷ 796,24)
X	548,08** (468,45 ÷ 641,26)
XII	233,37** (199,46 ÷ 273,04)
XIII	231,27** (189,57 ÷ 282,15)
XIV	267,05** (228,24 ÷ 312,44)
XV	198,06** (169,28 ÷ 231,73)
Прозерин	2,70* (2,21 ÷ 3,29)
BW284c51	100,56* (82,43 ÷ 122,68)

Различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ) по отношению к прозерину (\*), BW284c51 (\*\*)

гу (N<sup>3</sup>-изомер с  $n = 5$ ), приближаясь к активности его N<sup>1</sup>-изомера – 1-[5-(диэтил-о-нитробензиламмио)пентил]-3,6-диметилурацилбромиду (см. [2, 3]).

Сравнение N-аммиопентильных производных  $\alpha,\omega$ -бисурацилилалканов (соединения IV-XIV) с 3-( $\omega$ -бензилдиэтиламмиоалкил)-1,6-диметилурацилбромидами (I-III) позволяет сделать следующие выводы: 1) среди структур IV-XIV наибольшей миорелаксантажной активностью, терапевтической широтой обладают соединения, у которых 6-метилурациловый фрагмент удален от урацилового на расстояние 3–6 метиленовых групп (соединения IV, VI, VIII-XI) (табл. 1); 2) введение второго урацилового фрагмента на расстояниях 3–8 метиленовых групп не приводит к существенному росту миорелаксантажной активности и терапевтической широты по сравнению с изученными ранее 1-( $\omega$ -диэтилбензиламмиоалкил)-3,6-диметилурацилбромидами и 3-( $\omega$ -бензилдиэтиламмиоалкил)-1,6-диметилурацилбромидами [2, 3]. Возможно, это свидетельствует о невысокой эффективности связывания на ацетилхолинэстеразе (АХЭ) локомоторных мышц 2-го урацилового фрагмента. Можно предположить два возможных объяснения этому: 1) в пределах значений  $n = 3-8$  нет зоны, способной к избирательному связыванию со вторым урациловым циклом; 2) низкая биологическая активность может быть следствием плохой растворимости N-аммиопентильных производ-

ных  $\alpha,\omega$ -бисурацилилалканов в биожидкостях (вода/липиды).

В этой связи, очевидно, что в последующем необходим синтез и изучение аналогов N-аммиопентильных производных  $\alpha,\omega$ -бисурацилилалканов, содержащих во 2-м урациловом фрагменте заместителей (ОН, СООН, Р[O], [ОН]<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>ОН и т. д.), значительно увеличивающих гидрофильность и фармакодинамический потенциал всего соединения.

Теоретически, повышение избирательности влияния соединений на АХЭ локомоторных мышц возможно за счет взаимодействия трех фрагментов молекулы ингибитора (двух урациловых и одного бензильного) с функциональными группами аминокислот, находящимися у начала «ущелья» активного центра АХЭ («урацил-связывающий участок»). В случае комплементарного («правильного») взаимодействия это должно приводить к прочному закреплению всей молекулы на АХЭ и к повышению параметров интегральной биологической активности [1-3]. Биохимическая роль этих «урацил-связывающих участков» не ясна, но можно предполагать, что геометрия взаимного расположения этих участков различна (или, иначе, строго специфична) у макромолекул АХЭ, принадлежащих не только разным таксономическим группам животных, но также разным функциональным типам синапсов (например, синапсам диафрагмы и локомоторных мышц). Данные различия могут быть основой целенаправленной разработки новых ингибиторов АХЭ с более высокими показателями избирательности в отношении тех или иных животных или групп скелетных мышц.

**Заключение.** Таким образом, для 6 из 15 изученных соединений (IV, VI, VIII-XI) характерны высокие показатели избирательности действия в отношении локомоторной функции и соответствующей «фармакологической безопасности» (DL<sub>50</sub>/DE<sub>50</sub> до 22,5 в тесте «бег на третбане»). По критерию токсичности и соответствующей «экологической безопасности» на дафниях (CL<sub>50</sub> до 756,24 мкМ) соединения IV-VIII, X, XII-XV существенно превосходят свои фосфорилированные аналоги [2], а также прозерин и BW284c51 (табл. 2).

Работа поддержана грантами РФФИ № 07-04-01137, № 07-04-12097, Президента РФ «Ведущие научные школы» НШ-4444.2006.4, грантами АН РТ № 03-3.1-30/2006(Г), № 09-9.3-278(ПЛ)/2006(Г).

## Список литературы

1. Резник В.С., Аникиенко К.А., Курочкин В.К. и др. Новый класс ингибиторов холинэстераз: тетраалкиламмониевые производные 6-метилурацила и аллоксазина // Доклады РАН, 1998. – Т. 362. – № 1. – С. 68-70.

2. **Зобов В.В., Петров К.А., Аслямова А.А. и др.** Фосфорилированные и тетраалкиламмониевые производные урацила: безопасность и избирательность миорелаксантного действия // *Современные проблемы токсикологии*, 2004. — № 3. — С. 25-33.

3. **Зобов В.В., Аслямова А.А., Березинский Л.А. и др.** Синтез и биологическая активность некоторых моно- и бис- $\omega$ -аммониоалкилурацилбромидов // *Хим.-фарм. ж.*, 2005. — Т. 39. — № 5. — С. 15-19.

4. **Фомин Г.С.** Вода. Контроль химической, бактериальной и радиационной безопасности по международным стандартам. — 2-е изд. — М.: Протектор, 1995. — С. 410-458.

5. **Бобков Ю.Г., Виноградов В.М., Катков В.В. и др.** Фармакологическая коррекция утомления. — М.: Медицина, 1984. — 208 с.

6. **Jones B.J., Roberts D.J.** *The Quantitative Measurement of Motor Incoordination in Naive Mice Using an Accelerating Rotarod* // *J. Pharm. Pharmacol.*, 1968. — V. 20. — P. 302-304.

7. **Измеров Н.Ф., Саноцкий И.В., Сидоров К.К.** Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном введении (справочник). — М.: Медицина, 1977. — С. 196-197.

8. **Graslund S., Bengtsson B.E.** *Chemicals and biological products used in south-east Asian shrimp farming, and their potential impact on the environment* // *Sci. Total. Environ.*, 2001. — V. 280. — № 1-3. — P. 93-131.

Материал поступил в редакцию 27.06.07.

V.V.Zobov, A.V.Lantsova, A.V.Zobov, V.D.Akamsin, I.V.Galyametdinova, S.G.Fattakhov,  
R.Kh.Guiniyatullin, S.M.Gorbunov, V.S.Reznik

## TOXICITY AND THERAPEUTIC RANGE OF 3-( $\omega$ -BENZYLDIETHYLAMMONIO-ALKYL)-1,6-DIMETHYLURACIL BROMIDES AND THEIR ANALOGS

A. Ye. Arbutov Institute for Organic and Physical Chemistry, Russian Academy of Sciences, Kazan

A row of substituted 3-[ $\omega$ -benzyl diethylammonioalkyl]-1,6-dimethyluracil bromides and N-(ammoniopentyl) derivatives of  $\alpha,\omega$ -bis uracil alkanes with an anti-choline esterase type of action are «high toxic» to mice and «low toxic» or «practically non-toxic» to *Daphnia*. Under «treadmill» and «rod rotating» tests (mice, intraperitoneal) substances in which 6-methyl uracil fraction is away from uracil fraction at a distance of 3 to 6 methylene groups are pharmacologically and ecologically safer than proserine and BW284c51.

УДК 616-092.19-02:546.48

Е.В.Степанова<sup>1\*</sup>, О.В.Слюзова<sup>1\*</sup>, А.Б.Бучарская<sup>2</sup>, Р.А.Киреев<sup>1</sup>, В.В.Игнатов<sup>1</sup>

## РАЗВИТИЕ АДАПТАЦИОННЫХ МЕХАНИЗМОВ У САМОК БЕЛЫХ КРЫС В ОТВЕТ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ИОНОВ КАДМИЯ

<sup>1</sup>Саратовский государственный университет

<sup>2</sup>Областная детская клиническая больница, Саратов

Установлено, что ионы кадмия оказывают ингибирующее воздействие на активность антиоксидантной системы организма, приводят к образованию свободных радикалов и усилению процессов перекисного окисления липидов, угнетают факторы неспецифического иммунитета. Выявлена зависимость исследованных показателей от простривия времени адаптации.

**Ключевые слова:** кадмий, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, механизмы адаптации, иммунитет.

**Введение.** Сопротивляемость организма влиянию неблагоприятных факторов во многом определяется состоянием его физиологических систем, возрастными, половыми особенностями организма, силы и продолжительности действия раздражителя. Биологический смысл

и характер адаптационных реакций заключается в мобилизации функциональных резервов организма, необходимых для поддержания гомеостаза. Конечный результат мобилизации адаптационных механизмов — приспособление организма к новым условиям внешней и внутренней среды или несостоятельность системы неспецифической защиты. Перекисное окис-

\* Фрагмент диссертационной работы