



СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Курляндский Б.А., Хамидулина Х.Х., Замкова И.В. Анализ итогов государственной регистрации потенциально опасных химических веществ в Российской Федерации за 2005 г. 2

Малочкина Е.И., Степанский М.Л., Торубаров А.И., Татаринский В.С., Ходаковская О.А., Петрунин В.А. Токсикологическая оценка реакционных масс, полученных при уничтожении фосфорорганических отравляющих веществ 5

Демидова С.А., Максимова Е.Ю., Масленников А.А., Юдина Е.В. Экспериментальная оценка токсического влияния отравляющих веществ кожно-нарывного и нервно-паралитического действия на микробоценоз почвы 10

Зобов, В.В. Ланцова А.В., Резник В.С., Акамин, В.Д. Галяметдинова И.В. Роль особенностей химической структуры тетраалкиламмониевых п-гетероциклических соединений в избирательности их влияния на локомоторные мышцы 14

Петров А.Н., Шевчук М.К., Кучер Е.О., Лычков А.В. Поведенческие последствия совместного воздействия марганца и парацетама 19

Онбыш, Т.Е. Погорельый В.Е., Макарова Л.М., Слюнькова Н.Е. Сравнительное изучение противогипоксической активности нейропротекторов при введении метгемоглобинообразователя 21

Бондаренко Л.Б., Сапрыкина Н.А., Коваленко В.Н. Пул свободных аминокислот печени крыс в норме и при введении различных доз пиразинамида 24

Лукьянов А.С. Конформационные изменения овальбумина как показатель острой токсичности химических соединений 29

Мирзоев Э.Б., Кобылко В.О., Губина О.А., Валейчик А.И., Верховский Ю.Г. Интенсивность внутриклеточного накопления кадмия и репликативного синтеза ДНК в тимocyтах крыс при хроническом поступлении металла с питьевой водой 36

Юбилейные даты
Леонид Моисеевич Шафран
(к 70-летию со дня рождения) 39

БЮЛЛЕТЕНЬ РОССИЙСКОГО РЕГИСТРА ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ
Новые сведения о токсичности и опасности химических и биологических веществ 41

Новые публикации по токсикологии и смежным дисциплинам 44

Информация 45

Перечень химических и биологических веществ, прошедших государственную регистрацию (сообщение № 68) 47

Kurlyandskiy B.A., Khamidulina Kh.Kh., Zamkova I.V. Analysis of the state registration of chemicals in the Russian Federation in 2005 2

Malochkina E.I., Stepanskiy M.L., Torubarov A.I., Tatarinskiy V.S., Khodakovskaya O.A., Petrunin V.A. Toxicological assessment of reaction masses resulting from destruction of organophosphoric toxic agents 5

Demidova S.A., Maksimova Ye.Yu., Maslennikov A.A., Yudina Ye.V. Experimental evaluation of toxic effect posed by toxic agents producing dermatovesical and neuroparalytic action on soil microocenosis 10

Zobov V.V., Lantsova A.V., Reznik V.S., Akamsin V.D., Galyametdinova I.V. Role of chemical structure singularities of tetralkyl ammonia N-heterocyclic compounds in their selective influence on locomotive muscles 14

Petrov A.N., Shevchuk, M.K. Kucher Ye.O., Lychakov A.V. Behavioral consequences of a joint exposure by manganese and paracetamum 19

Onbysh T.Ye., Pogoreliy V.Ye., Makarova L.M., Slyunkova N.Ye. Comparative study of antihypoxic activity of neuroprotective agents at administration of methemoglobin former 21

Bondaremko L.B., Saprykina, N.A. Kovalenko V.N. Pool of free amino acids in rat liver at a normal rate and at administration of different doses of pyrazinamide 24

Lukyanov A.S. Conformation changes in ovalbumin as indicator of acute toxicity of chemicals 29

Mirzoyev E.B., Kobyalko V.O., Gubina O.A., Valeychik A.I., Verkhovskiy Yu.G. Intensity of intracellular accumulation of cadmium and replicative synthesis of DNA in rat thymocytes at chronic uptake of the metal with drinking water 36

Anniversaries
Leonid Moiseyevich Shafran
(his 70th anniversary) 39

BULLETIN OF THE RUSSIAN REGISTER OF POTENTIALLY HAZARDOUS CHEMICAL AND BIOLOGICAL SUBSTANCES
News on toxicity and hazard of chemical and biological substances 41

New publications on toxicology and related disciplines 44

Information 45

List of chemical and biological substances registered on the state level (list № 68) 47

УДК 615.9

Б.А.Курляндский, Х.Х.Хамидулина, И.В.Замкова

АНАЛИЗ ИТОГОВ ГОСУДАРСТВЕННОЙ РЕГИСТРАЦИИ ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫХ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ЗА 2005 г.*ФГУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ»,
Москва*

Прогнозируется дальнейшее преобладание развития в стране нефтедобычи и нефтепереработки на основе импорта веществ, обеспечивающих высокие технологии. Большинство веществ, поступающих в обращение на территорию РФ из-за рубежа, не обеспечены необходимой информацией о токсичности и опасности. В работе представлено распределение веществ по отраслям промышленности, классам опасности и другим показателям.

Ключевые слова: химическое вещество, государственная регистрация, токсичность, опасность.

Введение. Большое значение для профилактики химических воздействий на здоровье человека и окружающую природу имеет учет реально обращающихся веществ, их количеств, а также предприятий-производителей и импортеров. Сбор сведений об области применения, токсичности и опасности веществ позволяет своевременно разработать целенаправленный комплекс мероприятий по минимизации этих воздействий и прогнозировать приоритетные направления деятельности Роспотребнадзора в области химической безопасности.

Итоги деятельности Российского регистра потенциально опасных химических и биологических веществ (ныне ФГУЗ «РПОХБВ» Роспотребнадзора), постоянно осуществляющего сбор и изучение информации об обращающихся на территории Российской Федерации химических веществах и связанных с ними опасностях, позволяют определить отрасли экономики и вещества, приоритетные для оценки риска, социально-гигиенического мониторинга и принятия своевременных управленческих решений. Целью настоящей работы явился анализ обращения химических веществ в стране и прогнозирование основных тенденций развития промышленности с точки зрения опасности для окружающей среды и здоровья человека по имеющимся в регистре данным за 2005 год.

Материал и методы исследования. С использованием Автоматизированной распределенной информационно-поисковой системы ФГУЗ «РПОХБВ» (АРИПС) «Опасные вещества» был проведен всесторонний анализ данных о веществах, прошедших государственную регистрацию в 2005 году. Изучено распределение веществ по химическому составу, областям применения, показателям токсичности и опасности; классам опас-

ности при однократном воздействии и величинам ПДК в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест, воде водных объектов. Полученные данные были сопоставлены с официальными данными и полученными ранее результатами собственных исследований.

Результаты и обсуждение. Проведенные исследования показали, что в 2005 г., как и последние 10 лет [1, 2], ведущую роль в промышленном производстве России играли азотсодержащие органические соединения (амины, амиды, нитро- и цианосоединения, четвертичные аммониевые соли), соединения тяжелых металлов, производные бензола, полимеры, органические кислоты их эфиры и соли, кислородсодержащие органические соединения и их производные, алифатические соединения и их производные, поступающие на Российский рынок преимущественно из-за рубежа (70,3%) (табл. 1).

Сбор и анализ информации о токсичности и опасности индивидуальных химических веществ, прошедших государственную регистрацию в 2005 году, свидетельствует о том, что соединения 1 класса опасности (чрезвычайно опасные) среди них составляют 6%, 2 класса (высокоопасные) – 13%.

Чрезвычайно опасные вещества представлены в основном органическими соединениями свинца, никеля, кобальта, хрома, используемыми в металлургической (33,3%), нефтегазодобывающей (16,6%), химической (16,6%) промышленности; гальванике (16,6%), электронике (16,6%). Поступающие в обращение соединения тяжелых металлов, являясь политропными ядами, обладающими специфическими и отдаленными эффектами, представляют реальную угрозу здоровью человека и требуют особого внимания со стороны органов Роспотребнадзора.

Таблица 1

Распределение по химическому составу веществ (в %), прошедших государственную регистрацию в 2005 г.

Группа соединений	Отечественное производство	Импорт	Итого
Азотсодержащие органические соединения (амиды, амины, нитросоединения, цианосоединения, четвертичные аммониевые соли)	8,1	26,1	34,2
Соединения металлов (органические и неорганические)	4,5	11,7	16,2
Полимеры	4,5	10,8	15,3
Органические кислоты, эфиры, соли	3,6	10,8	14,4
Производные бензола	2,7	5,4	8,1
Кислородсодержащие органические соединения и их производные (спирты, альдегиды, ангидриды)	1,8	4,5	6,3
Алифатические соединения и их производные (циклические соединения, насыщенные и ненасыщенные углеводороды)	4,5	0,9	5,4

Таблица 2

Обеспеченность информацией о специфических и отдаленных эффектах веществ, поступивших на государственную регистрацию в 2005 г.

Эффект	Изучено (в %)
Сенсибилизирующее действие	47
Эмбриотоксическое действие	7
Гонадотоксическое действие	8
Тератогенное действие	9
Мутагенное действие	34
Канцерогенное действие	15

Среди зарегистрированных веществ 2 класса опасности такие азотсодержащие органические соединения, как бензилцианид, 2,6-дихлор-4-нитробензоламин, 4,4'-диизоцианатдифенилметан, 2,4'-диизоцианатдифенилметан, четвертичные аммониевые соли; а также бром, димарганец триоксид и др., применяемые в нефтегазодобывающей и анилиноокрасочной промышленности. Указанные химические вещества обладают способностью раздражать ко-

жу и слизистые оболочки глаз, проникать через неповрежденные кожные покровы, вызывать сенсибилизацию организма. Известна мутагенная активность бензилцианида, 2,6-дихлор-4-нитробензоламина. Кроме того, бензилцианид и диизоцианатдифенилметаны, вещества 1 и 2 класса опасности, способны вызывать острые отравления.

Предшествующий государственной регистрации сбор информации о реальной опасности и отдаленных последствиях воздействия химических веществ на здоровье человека и окружающую среду показал, что многие из них не обеспечены достаточными данными об идентификации опасности, необходимыми для разработки эффективных мер безопасности. Чрезвычайно ограничены сведения по оценке сенсибилизирующего, мутагенного, канцерогенного эффектов, по влиянию на репродуктивную функцию (табл. 2). В доступных отечественных и зарубежных источниках информации практически отсутствуют данные о влиянии рассмотренных веществ на иммунную, эндокринную системы, метаболические процессы.

Таблица 3

Распределение химических веществ, зарегистрированных в 2005 г., имеющих ПДК, по классам опасности

Класс опасности	Атмосферный воздух	Воздух рабочей зоны	Вода водных объектов
1	4	5	1
2	4	7	11
3	5	7	9
4	1	6	7
Всего	14	25	28

Из представленной табл. 2 видно, сколь мал объем информации о специфическом действии обращающихся химических веществ.

Большая часть химических соединений (81%), поступающих на внутренний рынок, это вещества 3 и 4 класса опасности. Среди них кислородсодержащие, алифатические соединения и их производные, эфиры органических кислот, полимеры, которые широко используются в нефтегазодобывающей, резинотехнической промышленности, бытовой химии. Они характеризуются умеренной (40% веществ) и малой (60%) опасностью при однократном внутрижелудочном, ингаляционном и кожном воздействии, слабой кумулятивностью, слабовыраженным раздражающим действием на кожу и слизистые оболочки, отсутствием кожно-резорбтивного действия. Большая часть из них по величинам ПДК отнесена к 4 классу опасности, 19% веществ в силу своих физико-химических свойств и низкой биологической активности не требуют проведения углубленных исследований и разработки ПДК в воздушной среде в соответствии с ГН 1.1.701-98 «Гигиенические критерии для обоснования необходимости разработки ПДК и ОБУВ (ОДУ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест, воде водных объектов».

Анализ изучаемых химических соединений с позиций их обеспеченности гигиеническими нормативами показал, что для 16% веществ установлены ПДК и ОБУВ в атмосферном воздухе населенных мест, для 28% – в воздухе рабочей зоны, для 32% – в воде водных объектов. Таким образом, 76% химических веществ, поступивших на государственную регистрацию, имеют установленный гигиенический норматив хотя бы в одной среде. Распределение зарегистрированных веществ, имеющих ПДК, по классам опасности представлены в табл. 3.

Анализ использования химических веществ, поступивших в обращение на территории Российской Федерации в 2005 г., по отраслям промышленности (табл. 4) показал, что, как и в предыдущие годы, в условиях продолжающейся

Распределение химических веществ по отраслям промышленности

Отрасль	%
Нефтегазодобывающая и нефтеперерабатывающая промышленность	42
Бытовая химия	17
Химическая промышленность	17
Резинотехническая промышленность	9
Металлургическая промышленность и гальваника	9
Фармацевтическая промышленность (производство сырья)	6

стагнации отечественной химической промышленности по-прежнему активно развиваются такие отрасли экономики, как нефтегазодобывающая и нефтеперерабатывающая, производство бытовой химии, полимерных материалов, сырье для которых, в основном, поступает из-за рубежа.

Заключение. Проведенный анализ химических веществ, прошедших государственную регистрацию в 2005 г., показал, что:

1. Большинство веществ, поступающих из-за рубежа на отечественный рынок, не обеспечено необходимым набором данных о токсичности и опасности.

2. Имеет место внедрение в промышленность веществ 1 и 2 классов опасности.

3. Следует считать, что в ближайшее пятилетие будет доминировать нефтедобыча и нефтепереработка на основе импорта веществ, обеспечивающих высокие технологии.

Список литературы

1. Курляндский Б.А., Хамидулина Х.Х., Кудинова О.Н. *Современные тенденции промышленного развития России и токсикологические проблемы химической безопасности // Токсикологический вестник, 2005. – № 1. – С. 2-14.*

2. *Российский статистический ежегодник 2004 г. – М.: Росстат, 2005. – 728 с.*

Материал поступил в редакцию 12.01.06.

B.A.Kurlyandskiy, Kh.Kh.Khamidulina, I.V.Zamkova

ANALYSIS OF THE STATE REGISTRATION OF CHEMICALS IN THE RUSSIAN FEDERATION IN 2005

Russian Register of Potentially Hazardous Chemical and Biological Substances, Moscow

It is predicted that oil production and refining will be further growing in prevalence in the country basing on the import of substances ensuring the application of high technology in this industrial sector. Most imported substances handled on the RF territory are not provided with adequate information on their toxicity and safety. The distribution of substances among industrial branches and according to hazard classes and other indicators is presented.

УДК 615.917'558.1

Е.И.Малочкина*, М.Л.Степанский, А.И.Торубаров,
В.С.Татаринский, О.А.Ходаковская, В.А.Петрунин**ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РЕАКЦИОННЫХ МАСС, ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ УНИЧТОЖЕНИИ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ОТРАВЛЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ***ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт органической химии и технологии», Москва*

Ведущим компонентом паро-воздушной смеси реакционных масс от зарина и зомана, определяющим клинические проявления интоксикации, является трибутиламин, а от жидкого и вязкого VX — (2-диэтиламино)этилизобутилсульфид.

Экспериментально установлено, что летучие компоненты реакционных масс от зарина, зомана, жидкого и вязкого VX при ингаляционном воздействии в опытах на животных не обладали антихолинэстеразной активностью.

Реакционные массы, полученные при уничтожении зарина, зомана, жидкого и вязкого VX обладают кожно-резорбтивным и раздражающим действием на кожные покровы крыс.

Ключевые слова: зарин, зоман, VX, реакционные массы, токсикологическая оценка.

Введение. В рамках Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и его уничтожении [4] российскими специалистами разработан двухстадийный процесс уничтожения фосфорорганических отравляющих веществ — зарина, зомана и VX (жидкого и вязкого).

На первой стадии детоксикация зарина и зомана осуществляется с помощью моноэтаноламина. В результате взаимодействия зарина и зомана с моноэтаноламином образуются реакционные массы. Остаточное содержание зарина и зомана в реакционных массах не должно превышать $1 \cdot 10^{-4}$ % по массе.

Для нейтрализации VX используется рецептура РД-4М, основным компонентом которой является изобутилат калия. После взаимодействия VX с рецептурой РД-4М образуются реакционные массы с остаточным содержанием VX в реакционной массе до $5 \cdot 10^{-4}$ % по массе.

Второй и обязательной стадией процесса уничтожения зарина, зомана и VX является переработка реакционных масс методом битумирования с получением малоопасных битумно-солевых масс. На уровне чувствительности современных аналитических методов следовых количеств зарина, зомана и VX в битумно-солевых массах не обнаружено [1].

Данная статья посвящена токсикологической оценке реакционных масс, получаемых на первой стадии уничтожения отравляющих веществ.

По технологической схеме реакционные массы находятся в герметичных сборниках в атмосфере азота, или транспортируются по герметич-

ным трубопроводам. При нарушении герметичности технологического оборудования (появление микротрещин и свищей в материале оборудования, частичное разрушение прокладочных материалов), возможно попадание реакционных масс в воздух рабочей зоны. При этом максимально возможное содержание летучих компонентов реакционных масс будет соответствовать равновесному составу паровой фазы при температуре жидкой фазы (60°C). Это обстоятельство диктует необходимость проведения токсикологических исследований реакционных масс с позиций оценки их опасности для персонала, занятого в производственном процессе.

Целью настоящей работы явилось: 1) изучение острой токсичности реакционных масс, полученных при уничтожении зарина, зомана, жидкого VX и вязкого VX, при внутрижелудочном введении, 2) определение кожно-резорбтивного действия реакционных масс от зарина, зомана, жидкого VX и вязкого VX, 3) изучение ингаляционной токсичности реакционных масс от зарина, зомана, жидкого VX и вязкого VX в статических условиях, 4) определение химического состава равновесной паровой фазы реакционных масс от зарина, зомана, жидкого VX и вязкого VX.

Материал и методы исследования. В работе использовали образцы реакционных масс, полученные в ходе опытных работ на объекте уничтожения химического оружия в п. Щучье. Реакционные массы представляют собой подвижные жидкости темно-коричневого цвета.

Эксперименты по изучению острой токсичности реакционных масс, полученных при детоксикации зарина, зомана, VX и вязкого VX,

* Фрагмент диссертационной работы

проведены на беспородных белых крысах самцах при внутрижелудочном введении и при кожной аппликации. Ингаляционную токсичность изучали в опытах на белых беспородных мышах самцах. В эксперименте использовано 132 крысы и 84 мыши.

Крысы и мыши поступали в лабораторию из центрального питомника лабораторных животных РАМН «Крюково». Поступивших из питомника животных содержали в карантинном отделении вивария в течение 2 недель. В этот период ветеринарный врач регулярно осуществлял обследование животных с регистрацией всех отклонений в их состоянии, если таковые имелись.

При определении острой токсичности реакционные массы вводили крысам внутрижелудочно натошак через зонд. При изучении кожно-резорбтивного действия у крыс за сутки до опыта в области спины выстригали участок размером 4x4 см. Каждая подопытная группа состояла из 6 животных. Время экспозиции – 4 ч. Максимальная наносимая доза на кожу соответствовала 2500 мг/кг. Длительность (ежедневного) наблюдения за подопытными животными составила 14 дней. В период наблюдения фиксировали симптомы интоксикации. Статистическую обработку результатов проводили по методу пробит анализа [3].

Ингаляционное воздействие реакционных масс моделировали в статических условиях при воздействии паров в насыщенных концентрациях, которые создавались при нормальных условиях в замкнутом объеме (8-литровый эксикатор) в течение 18 ч до опыта. Подопытных мышей помещали в затравочный эксикатор на 2 ч. Контрольных животных на такой же срок помещали в другой эксикатор. Аналитический контроль воздуха в затравочном эксикаторе не проводили. По окончании двухчасовой экспозиции у мышей определяли активность холинэстеразы в крови по методу Элмана [3] с использованием диагностических наборов фирмы «Lachema». Выживших животных подвергали эвтаназии углекислым газом.

Определение состава равновесной паровой фазы проводили хроматомасс-спектрометрическим методом с использованием хроматографа фирмы «Хьюлетт-Пакард» HP-5972 с масс-спектральным детектором. Разделение компонентов смесей осуществляли в хроматографической колонке длиной 30 м, диаметром 0,25 мм с неподвижной жидкой фазой HP-5 в режиме программированного повышения температуры от 40 до 260°C со скоростью подъема температуры 10°C/мин.

Для достижения фазового равновесия использовали сосуды с внутренним объемом 3,5 см³, снабженные герметично закрывающимися крышками с резиновой мембраной, изолируемой от парового пространства с помощью тefлонового плунжера (во избежание сорбции паров материалом мембраны во время выдержки сосуда для достижения фазового равновесия). В сосуд помещали 2 мл испытуемой реакционной массы, герметично закрывали крышкой и выдерживали в термостате при заданной температуре (комнатной 24°C или 60°C) в течение 1 ч. После установления фазового равновесия газоплотным шприцем через резиновую мембрану отбирали пробу равновесной паровой фазы объемом 0,250 см³ и вводили ее в испаритель газового хроматографа. При проведении испытаний при 60°C шприц предварительно нагревали до такой же температуры во избежания конденсации паров на стенках шприца.

После завершения хроматографического разделения компонентов паровоздушной смеси осуществляли идентификацию соединений путем автоматического библиотечного поиска с использованием базы данных NIST98 и базы экспериментальных данных TVS1.

Результаты и обсуждение. *Токсические свойства реакционных масс, полученных при уничтожении зарина и зомана, при внутрижелудочном введении и кожной аппликации.* После внутрижелудочного введения реакционных масс в дозах 3000, 2000 и 1000 мг/кг у животных через 15-20 мин развивалась клиническая картина интоксикации, характеризующаяся снижением двигательной активности, учащением дыхания, развитием мышечной слабости, у отдельных особей наблюдалась атаксия, крысы становились заторможенными, отмечалось общее угнетение. Гибель животных наблюдалась в течение первых трех суток после введения.

DL₅₀ реакционной массы от зарина составила 1542,4 (1092,6 ÷ 2177,4) мг/кг, от зомана – 2088,8 (1596,0 ÷ 2733,7) мг/кг.

После нанесения реакционных масс от зарина и зомана на участок кожи крыс в дозе 2500 мг/кг у подопытных животных через 20-30 мин снижалась двигательная активность и развивалось общее угнетение. Гибель животных при воздействии реакционной массы от зарина в дозе 2500 мг/кг наблюдали у двух крыс из шести в течение 48 ч после воздействия. При кожном воздействии реакционной массы от зомана летальный исход наблюдали у одной крысы из шести через 24 ч.

По окончании экспозиции на месте нанесения реакционных масс отмечали развитие гипе-

ремии, отечность кожных покровов и появление на коже участков кровоизлияний. На следующие сутки на коже наблюдали появление сухих корок.

DL₅₀ реакционных масс как от зарина, так и от зомана при накожной аппликации составила > 2500 мг/кг.

Токсические свойства реакционных масс, полученных при уничтожении жидкого и вязкого VX, при внутрижелудочном введении и накожной аппликации. После внутрижелудочного введения реакционных масс от жидкого и вязкого VX в дозах 1000, 750 и 500 мг/кг у животных через 10-15 мин наблюдали снижение двигательной активности, через 30-35 мин – развитие мышечной слабости, через 45-60 мин – развитие тремора и судорог в виде подергиваний.

Гибель животных регистрировали в течение двух суток после введения реакционных масс.

DL₅₀ реакционной массы от жидкого VX составила 852,5 (598,6 ÷ 1214,2) мг/кг, от вязкого VX – 778,2 (602,7 ÷ 1004,8) мг/кг.

Через 15-20 мин после нанесения реакционных масс от VX (жидкого и вязкого) на кожу в дозах 200, 150, 100 и 75 мг/кг клиническая картина интоксикации характеризовалась развитием гиподинамии, тремора и судорожных подергиваний мышц тела. На месте нанесения реакционных масс через 5-10 мин отмечали развитие гиперемии и отечности кожных покровов.

Гибель животных при воздействии реакционной массы наступала в течение первых двух суток.

DL₅₀ реакционной массы от жидкого VX при накожной аппликации составила 115,8 (94,6 ÷ 141,8) мг/кг, от вязкого VX – 86,3 (68,4 ÷ 108,9) мг/кг.

Ингаляционная токсичность реакционных масс от зарина и состав их равновесной паровой фазы. Оценивали возможность острого ингаляционного отравления на белых мышах при создании насыщающей воздух концентрации путем свободного испарения реакционной массы от зарина. Во время 2-часовой экспозиции у подопытных мышей развивалась следующая картина интоксикации: беспокойство, сменяющееся гиподинамией, затрудненное дыхание, через 40 мин наблюдали периодически возникающий тремор, через 45 мин – боковое положение, через 85 минут – судорожные подергивания. Гибель двух мышей из шести наступила через 90-120 мин экспозиции.

У выживших животных определяли активность холинэстеразы крови. Полученные результаты показали, что активность холинэстеразы у опытных животных достоверно не отличалась от активности холинэстеразы контрольной группы

животных. Активность холинэстеразы крови в контроле составила 4,36±0,31 мкмоль/мл·мин, в опытной группе – 4,68±0,14 мкмоль/мл·мин.

В табл. 1 представлены результаты идентификации компонентов паро-воздушной смеси реакционной массы от зарина при 24 и 60°C.

Таблица 1

Основные компоненты паро-воздушной смеси от реакционной массы зарина

Наименование компонента	Весовое содержание, % при	
	24°C	60°C
О,О'-Диизопропиловый эфир метилфосфоновой кислоты	5,80	6,04
Трибутиламин	94,20	93,86
О-Изопропиламиноэтиловый эфир метилфосфоновой кислоты	-	0,1

Из приведенных в табл. 1 данных следует, что основным компонентом равновесной паро-воздушной фазы реакционной массы процесса детоксикации зарина как при комнатной температуре, так и при температуре 60°C являлся трибутиламин. При этом надежность идентификации трибутиламина очень высока – более 90%.

Поскольку по данным химико-аналитических исследований ведущим компонентом паровой фазы реакционной массы от зарина являлся трибутиламин (более 90%), была проведена оценка ингаляционной токсичности этого компонента в статических условиях.

В течение 2-часовой экспозиции в условиях насыщающей концентрации трибутиламина у мышей через 5 мин отмечали одышку, через 10 мин – ригидность хвоста, через 35 мин – гиподинамию, через 40 мин – развитие периодически возникающего тремора, боковое положение, через 52 мин – судорожные подергивания. Через 90-120 мин у 5 из 6 подопытных мышей наступала гибель.

Кроме того, в паровой фазе реакционной массы от зарина присутствовало около 6% О,О'-диизопропилового эфира метилфосфоновой кислоты. По нашим данным О-изопропиловый эфир метилфосфоновой кислоты (близкий аналог диизопропилового эфира метилфосфоновой кислоты) не обладал острой ингаляционной токсичностью. Так, во время 2-часовой экспозиции и после ее окончания подопытные мыши были в удовлетворительном состоянии и практически не отличались от животных контрольной группы. В течение последующих дней наблюдения гибели экспериментальных мышей не наблюдали, и по внешнему виду и по поведению они не отличались от группы интактных животных.

Таким образом, сравнительная клиническая картина интоксикации при ингаляционном воздействии реакционной массы от зарина и ее отдельных компонентов, идентифицированных в равновесной паровой фазе, указывает на то, что характер токсического действия реакционной массы определяется трибутиламин. ПДК паров трибутиламина в рабочей зоне составляет 1 мг/м³, 2-ой класс опасности, с пометкой «требуется специальная защита кожи и глаз» [2].

Ингаляционная токсичность реакционных масс от зомана и состав их равновесной паровой фазы. Двухчасовая ингаляция в условиях насыщающей концентрации реакционной массы от зомана приводила к развитию у мышей беспокойства, одышки, через 40 мин снижалась двигательная активность, животные становились заторможенными. Через 40 мин у отдельных особей отмечали судорожные подергивания. Гибели животных в течение эксперимента и последующего двухнедельного наблюдения не зарегистрировано.

Статистически значимых различий активности холинэстеразы крови опытных животных по сравнению с контрольной группой животных не отмечено. Активность холинэстеразы крови в контроле составила $5,88 \pm 0,36$ мкмоль/мл·мин, в опытной группе – $5,44 \pm 0,64$ мкмоль/мл·мин.

Состав паро-воздушной смеси над реакционными массами от зомана при 24 и 60°C представлен в табл. 2.

Таблица 2

Основные компоненты паро-воздушной смеси от реакционной массы зомана

Наименование компонента	Весовое содержание, % при	
	24°C	60°C
Моноэтаноламин	-	8,96
Пинаколиновый спирт	28,61	12,75
Трибутиламин	20,64	60,28
О,О'-Аминоэтилпинаколилметилфосфонат	41,40	14,83
О,О'-Дипинаколиловый эфир метилфосфоновой кислоты	9,35	3,18

Из представленных в табл. 2 данных следует, что при указанных температурах в паро-воздушной смеси обнаружены практически одни и те же соединения, однако, количественный их состав резко отличался. Так, если при температуре 24°C основным компонентом паро-воздушной смеси являлся О,О'-аминоэтилпинаколилметилфосфонат, то при повышении температуры до 60°C преобладающим соединением становился, как и в случае реакционных масс от зарина, трибутиламин.

В статических условиях при создании насыщающей концентрации путем свободного испарения моноэтаноламина у животных наблюдали одышку, затрудненное дыхание, заторможенность. Гибель животных отсутствовала.

Ранее нами была изучена острая ингаляционная токсичность О-пинаколилметилфосфоната (близкого аналога О,О'-дипинаколилового эфира метилфосфоновой кислоты и О,О'-аминоэтилпинаколилметилфосфоната) в опытах на белых мышах при создании насыщенной концентрации в статических условиях. Во время 2-часовой экспозиции и после ее окончания подопытные мыши не отличались от животных контрольной группы. В течение последующих дней наблюдения гибели экспериментальных животных не зарегистрировано.

Таким образом, результаты хромато-масс-спектрометрических исследований равновесной паровой фазы, а также сравнительный анализ клинической картины интоксикации при ингаляционном воздействии реакционной массы от зомана и ее отдельных компонентов, идентифицированных в этой равновесной паровой фазе, указывают, что токсическое действие реакционной массы от зомана, также как и реакционной массы от зарина, определяется трибутиламин.

Ингаляционная токсичность реакционных масс от жидкого VX, вязкого VX и состав их равновесной паровой фазы. Двухчасовая ингаляция в условиях насыщающей концентрации реакционной массы от жидкого VX и вязкого VX вызывала однотипную картину интоксикации: нарушение дыхания, беспокойство, периодическое подергивание мышц головы и тела, заторможенность. Гибели животных в течение эксперимента и последующего двухнедельного срока наблюдения не отмечено. Статистически значимых различий активности холинэстеразы крови опытных животных по сравнению с контрольной группой животных не установлено. Полученные данные по активности ХЭ крови мышей представлены в табл. 3.

Таблица 3

Активность холинэстеразы крови мышей при ингаляционном воздействии реакционных масс от жидкого и вязкого VX

Реакционная масса	Активность холинэстеразы крови, мкмоль/мл·мин	
	контроль	опыт
Жидкий VX	$5,36 \pm 0,21$	$5,49 \pm 0,36$
Вязкий VX	$4,96 \pm 0,19$	$4,51 \pm 0,20$

Результаты идентификации компонентов паро-воздушной смеси реакционной массы от жидкого VX и вязкого VX при 24 и 60°C представлены в табл. 4.

Компоненты паро-воздушной смеси реакционной массы от жидкого и вязкого VX

Наименование компонента	Реакционная масса от жидкого VX		Реакционная масса от вязкого VX	
	весовое содержание, % при			
	24°C	60°C	24°C	60°C
N-Метилпирролидон	58,48	54,36	58,25	49,66
(2-Диэтиламино)этилизобутилсульфид	41,52	45,64	41,75	50,34

Из приведенных в табл. 4 данных следует, что основными компонентами в составе паровоздушной смеси реакционной массы как от жидкого VX, так и от вязкого VX при температурах 24 и 60°C являлись N-метилпирролидон и (2-диэтиламино)этилизобутилсульфид.

Ранее проведенные исследования показали, что в течение ингаляционного воздействия (2-диэтиламино)этилизобутилсульфида в статических условиях у подопытных мышей через 60 мин наблюдали затрудненное дыхание, через 70 мин развивалась атаксия, через 90 мин – боковое положение и через 110 мин экспозиции часть животных погибала.

N-метилпирролидон при создании насыщающей концентрации путем свободного его испарения в статических условиях не вызывал у животных каких-либо клинических симптомов интоксикации.

Таким образом, компонентом, определяющим клинические проявления интоксикации при ингаляционном воздействии реакционной массы от VX и вязкого VX, является (2-диэтиламино)этилизобутилсульфид.

Заключение. Острая токсичность реакционных масс, полученных при уничтожении зарина и зомана, при внутрижелудочном введении составила 1542,4 мг/кг и 2088,8 мг/кг, соответственно.

Острая токсичность реакционных масс, полученных при уничтожении жидкого VX и вязкого VX, при внутрижелудочном введении составила 852,5 мг/кг и 778,2 мг/кг, соответственно.

Реакционные массы, полученные при уничтожении зарина, зомана, жидкого VX и вязкого VX обладали кожно-резорбтивным и раздра-

жающим действием на кожные покровы крыс.

Реакционные массы от зарина, зомана, жидкого и вязкого VX при ингаляционном воздействии в статических условиях при создании насыщающей воздух концентрации путем свободного испарения вызывали в опытах на животных клинические симптомы интоксикации.

Установлено, что ведущим компонентом паро-воздушной смеси реакционных масс от зарина и зомана, определяющим клинические проявления интоксикации, является трибутиламин.

Ведущим компонентом паро-воздушной смеси реакционных масс от VX и вязкого VX является (2-диэтиламино)этилизобутилсульфид.

Экспериментально установлено, что летучие компоненты реакционных масс от зарина, зомана, жидкого и вязкого VX при ингаляционном воздействии в опытах на животных не обладали антихолинэстеразной активностью.

Список литературы

1. *Белецкая И. Уничтожение химического оружия в России: политические, правовые и технические аспекты.* – М., 1999. – С. 99.
2. *ПДК вредных веществ в воздухе рабочей зоны. ГН 2.2.5.1313-03.* – М.: РПОХВ, 2003.
3. *Закс Л. Статистическое оценивание.* – М.: Статистика, 1976.
4. *Конвенция о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении. Международная конференция по подписанию конвенции.* – Париж, 1993.
5. *Ellman G.E., Courtney K.D., Andres V. et al. // Biochemical Pharmacol., 1961. – V. 7. – P. 88-95.*

Материал поступил в редакцию 09.11.05.

E.I.Malochkina, M.L.Stepanskiy, A.I.Torubarov, V.S.Tatarinskiy, O.A.Khodakovskaya, V.A.Petrinin TOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF REACTION MASSES RESULTING FROM DESTRUCTION OF ORGANOPHOSPHORIC TOXIC AGENTS

State-owned Establishment «State Research Institute of Organic Chemistry and Technology», Moscow

A leading ingredient determining clinical manifestation of intoxication in an air-and-vapor mixture of reaction masses resulting from the destruction of sarin and zoman is tributylamine and that from liquid and viscous VX is (2-diethylamine) ethyl isobutyl sulfide. It was established in experiments that volatile ingredients of reactions masses resulting from the sarin, zoman, liquid and viscous VX -destruction did not exert any anticholinesterase activity at inhalation exposure in tests on animals. Reaction masses resulting from the destruction of sarin, zoman, liquid and viscous VX produce dermato-resorbative effect on the rat skin.

УДК [615.917:623.459].015:614.77

С.А.Демидова*, Е.Ю.Максимова, А.А.Масленников, Е.В.Юдина

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ ОТРАВЛЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ КОЖНО-НАРЫВНОГО И НЕРВНО-ПАРАЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НА МИКРОБОЦЕНОЗ ПОЧВЫ

«Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии», Волгоград

В экспериментальных исследованиях определены подпороговые уровни воздействия ипритно-люизитной смеси (3 мг/кг) и зарина (0,005 мг/кг) на микробоценоз почвы.

Ключевые слова: ипритно-люизитная смесь, зарин, почва, микробоценоз, подпороговый уровень.

Введение. Утвердившаяся в России концепция безопасности процесса химического разоружения предусматривает создание научно и технически обоснованной системы мониторинга уничтожаемых отравляющих веществ (ОВ) в различных объектах окружающей среды, включая почву.

После попадания в почву ОВ начинается сложная цепь физико-химических, химических и микробиологических превращений. Все это не может не сказаться на биологических свойствах почвы.

В этой связи особый как научный, так и практический интерес представляет оценка токсического воздействия на почву веществ кожно-нарывного (ипритно-люизитная смесь – ИЛС) и нервно-паралитического действия (зарин).

Данные исследования являлись составной частью работ по обоснованию гигиенических нормативов содержания указанных соединений в почве.

Материалы и методы исследования. Токсичное влияние ИЛС и зарина на почвенный микробоценоз оценивали по общей численности микроорганизмов двух основных физиологических групп: бактерий и почвенных грибов [3, 4].

При проведении исследований в качестве бактериальных тест – объектов выбраны: сапрофитные и *Escherichia coli*. Сапрофитные бактерии представляют наиболее многочисленную и активную группу почвенного микробоценоза, играющую важную роль в любых процессах самоочищения почвы (разложение органических соединений синтетического, растительного и животного происхождения). *E. coli* как патогенная микрофлора является индикатором загрязнения. Возрастание количества колоний данных бактерий свидетельствует о торможении процесса самоочищения почвы.

Целесообразность включения в исследования почвенных грибов, участвующих в минерализа-

ции органических веществ и образовании гумуса, обусловлена тем, что последние, как известно, являются высокочувствительной группой почвенной микрофлоры к воздействию ксенобиотиков [5-7].

Для соблюдения принципа экстремальности эксперименты выполнены с использованием смеси модельного почвенного эталона (МПЭ) и образцов почв при температуре 20-25°C и влажности 60% от полной влагоёмкости (ПВ). Модельный почвенный эталон – предварительно подготовленный карьерный среднемелькозернистый песок, отобранный с глубины 3-х метров от поверхности почвы [3]. Образцы почв по составу были идентичны почвам районов размещения объектов уничтожения фосфорорганических (лесной чернозем) и кожно-нарывных (степная подзолистая почва) ОВ.

В течение всего периода исследований (14 суток) сосуды с модельной почвой (загрязненной и незагрязненной веществами) выдерживались при комнатной температуре (20-25°C) в темноте и постоянной влажности (60% от ПВ), которая поддерживалась на указанном уровне путем ежедневного добавления 10 мл/кг дехлорированной водопроводной воды. Показатели рН-среды водных вытяжек из почвы, приготовленных при соотношении МПЭ: вода – 1:10, были нейтральными (рН 7-8) [3-5].

В почвенных образцах, загрязненных ИЛС и заринном определяли общую численность:

- почвенных грибов на среде Чапека;
- сапрофитных бактерий на почвенном агаре;
- колоний *Escherichia coli* на среде Эндо.

С целью исключения роста патогенных бактерий рН среды Чапека предварительно довели до 4,0-4,5, добавляя концентрированную молочную кислоту в количестве 4 мл/л [4, 6-11].

Влияние представленных в эксперименте ОВ на сапрофитную микрофлору оценивали по из-

* Фрагмент диссертационной работы

менению численности данного вида бактерий, выращиваемых на почвенном агаре.

В сосуды, содержащие модельную почву, загрязненную и незагрязненную веществами, вносили приготовленную суспензию культуры *E. coli*, плотность которой по стандарту мутности равна 10 ед. [3], в количестве 1 мл исходной взвеси на 1 кг почвы.

Внесение в чашки Петри с питательными средами тестируемых культур микрофлоры осуществляли капельным методом, почвенных грибов – поверхностным методом [3, 4].

Посев бактерий, почвенных грибов проводили при разведении модельной почвы в стерильной водопроводной воде в интервале от 1:10 до 1:10000 [4].

Руководствуясь требованиями методических рекомендаций, общую численность бактерий и почвенных грибов на 1 г абсолютно сухой почвы учитывали через 1, 3, 7, 10 и 14 суток после посева [3].

Микробиологические отборы проб и посевы из почвы проводили следующим образом: а) в день загрязнения почвы только из сосудов, не содержащих вещество (контроль); б) через 1-, 3-, 7-, 10- и 14-е сутки, с момента внесения вещества в смесь, из сосудов с загрязненной и незагрязненной почвой.

В соответствии с общеустановленными требованиями подсчет численности микроорганизмов проводили в чашках Петри, содержащих не менее 50 и не более 200 колоний, и констатировали количество клеток в 1 г абсолютной сухой почвы, рассчитанное по формуле [4]

$$N = \frac{n \cdot a \cdot 100\%}{100 - c}$$

где: N – количество клеток в 1 г абсолютной сухой почвы; n – общая численность колоний, выросших на поверхности чашки Петри; a – степень десятикратного разведения; c – влажность почвы, %.

За критериально-значимую величину принимали выход показателей в опыте за пределы 50% отклонений от таковых в контроле [3, 12].

Результаты и обсуждение. Оценку однократного токсического влияния ИЛС на почвенный микробоценоз проводили при её испытании в концентрациях 6, 3 и 1 мг/кг.

В процессе выполнения исследований установлено достоверное замедление роста колоний бактерий *E. coli* (50,9%) при внесении вещества в почву концентрации 6 мг/кг только через первые сутки (табл. 1).

Снижение уровня воздействия зарина (3 и 1 мг/кг) не вызывало статистически значимых из-

Таблица 1

Динамика численности микроорганизмов почвы, загрязнённой ипритно-люизитной смесью

Объект исследования	Период наблюдения, сутки	Контроль	Содержание ИЛС в почве, мг/кг					
			6,0		3,0		1,0	
		M±m	M±m	Эффект воздействия, %	M±m	Эффект воздействия, %	M±m	Эффект воздействия, %
<i>E. coli</i>	0	191,80±14,36						
	1	694,70±62,98	341,40±13,98	50,90÷	463,50±13,67	33,30÷	688,20±50,87	0,90÷
	7	630,90±51,40	507,30±30,83	19,60÷	624,70±61,18	1,00÷	629,80±59,39	0,20÷
	10	450,50±32,62	376,90±31,67	16,30÷	444,50±31,10	1,30÷	447,00±41,29	0,80÷
	14	77,70±5,45	76,00±6,66	2,19÷	76,20±7,70	1,93÷	76,90±5,45	1,03÷
Грибы	0	144,30±12,87						
	1	261,70±21,26	248,45±14,85	5,06÷	257,80±21,39	1,50÷	258,20±19,22	1,34÷
	3	371,90±34,71	456,71±35,67	22,81÷	424,00±41,62	14,01÷	377,30±31,58	1,45÷
	7	305,80±31,86	321,07±29,11	5,00÷	319,90±31,93	4,60÷	301,70±28,70	1,30÷
	10	248,20±21,82	254,23±19,42	2,43÷	260,30±21,52	5,00÷	249,80±21,52	0,70÷
	14	76,70±6,34	80,11±7,01	4,45÷	77,60±6,35	1,20÷	76,80±6,34	0,20÷
Сапрофитные бактерии	0	179,70±15,85						
	1	155,20±14,52	171,08±15,11	10,23÷	169,90±16,64	9,47÷	157,10±14,63	1,20÷
	3	596,70±60,02	653,41±56,34	9,50÷	649,40±60,41	8,80÷	602,90±60,61	1,00÷
	7	362,50±30,56	384,29±29,43	6,01÷	376,80±36,43	4,00÷	364,00±26,39	0,40÷
	10	292,70±20,56	297,04±20,70	1,50÷	293,90±25,38	0,40÷	292,20±21,37	0,20÷
	14	139,80±10,40	147,02±10,47	5,16÷	138,90±12,30	0,70÷	139,20±13,60	0,50÷

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: ÷ – направленность изменения показателей относительно контроля

менений численности колоний патогенной микрофлоры.

При учёте численности сапрофитных бактерий и почвенных грибов, подвергнутых воздействию ксенобиотика в указанных концентрациях, межгрупповых отличий не выявлено.

Основываясь на полученных данных, в качестве пороговой концентрации ИЛС по воздействию на микробоценоз почвы принята величина 6 мг/кг, подпороговой – 3 мг/кг.

С целью сопоставления степени токсического воздействия производных метилфторфосфоновой кислоты при проведении экспериментов по оценке негативного воздействия зарина на микробоценоз почвы вещество испытывали в концентрации 8 мг/кг, определённой в ранее выполненных исследованиях, в качестве пороговой по общесанитарному показателю вредности зомана [13].

Кроме того, в данной серии опытов изучали возможное влияние зарина на микрофлору почвы в концентрациях 2 и 0,2 мг/кг.

В процессе проведения исследований установлено токсическое воздействие зарина на рост всех тестируемых биообъектов (табл. 2). Так, при оценке численности клеток культуры *E. coli* в течение первых трёх суток после внесения веществ

ва в почву во всех концентрациях зарегистрировано статистически значимое их увеличение (на 94,1–142,9%).

Аналогичный повышенный достоверный рост (на 82,3–781,1%) отмечен и у сапрофитных бактерий на первые сутки. Однако на третьи сутки количество клеток сапрофитной микрофлоры достоверно понизилось (на 72,2–78,8%).

При характеристике почвенных грибов установлено критериально значимое угнетение роста клеток на третьи сутки при воздействии вещества в концентрации 8 мг/кг.

Результаты проведённых исследований согласуются с общеизвестными сведениями о том, что минерализацию органического фосфора осуществляют преимущественно почвенные бактерии. Внесение органического вещества стимулирует рост этой физиологической группы микроорганизмов. При этом увеличение численности сапрофитных бактерий не ограничивает роста культуры *Escherichia coli*, что свидетельствует об отсутствии антагонизма между этими представителями [5, 9].

При проведении второй серии опытов вещество испытывали в концентрациях 0,025, 0,01 и 0,005 мг/кг (табл. 3).

Таблица 2

Воздействие зарина на общую численность почвенных микроорганизмов (колониобразующие единицы / 1 г почвы с учетом влажности)

Объект исследования	Период наблюдения, сутки	Контроль M±m	Содержание зарина в почве, мг/кг						
			8,0			2,0		0,2	
			M±m	эффект воздействия, %	M±m	эффект воздействия, %	M±m	эффект воздействия, %	
<i>E. coli</i>	0	27,5±0,4							
	1	110±0,3	213,8±10,9	94,08÷	253,9±15,9	130,9÷	254,3±12,9	131,1÷	
	3	101,4±8,3	202,3±9,21	99,51÷	246,3±10,5	142,9÷	218,6±12,2	115,7÷	
	7	100,9±9,82	135,90±8,44	34,67÷	126,37±11,47	25,23÷	111,29±10,08	10,29÷	
	10	95,89±6,47	121,41±13,53	26,61÷	93,85±7,46	2,13÷	84,38±7,45	12,00÷	
	14	83,43±5,48	94,73±8,15	13,54÷	81,49±6,32	2,33÷	82,94±3,44	0,59÷	
Сапрофитные бактерии	0	847±110,6							
	1	357,7±17,2	3151,8±26,5	781,13÷	3302,5±11,5	82,32÷	1042,0±114,4	191,3÷	
	3	9380,0±212,4	1986,6±93,6	78,82÷	5060,2±90,7	46,1÷	2606,7±124,9	72,2÷	
	7	8324,91±485,6	7210,43±399,20	13,39÷	6702,31±452,83	19,50÷	4434,27±494,35	46,73÷	
	10	7864,72±543,2	7053,91±647,20	10,31÷	5499,71±501,91	30,07÷	6290,01±602,29	20,02÷	
	14	5025,24±441,2	3499,81±247,90	30,36÷	4726,34±428,41	5,95÷	4320,24±396,43	14,03÷	
Грибы	0	40,81±3,08							
	1	45,27±3,52	37,46±2,65	17,25÷	39,51±2,95	12,72÷	48,22±3,82	6,52÷	
	3	29,95±2,98	13,86±0,95	53,72÷	30,05±2,71	0,33÷	26,14±1,69	12,72÷	
	7	25,41±3,47	19,91±5,01	21,65÷	21,63±8,52	14,88÷	24,49±7,95	4,78÷	
	10	15,38±6,83	12,43±3,43	19,18÷	11,44±5,32	25,62÷	9,83±1,29	36,08÷	
	14	10,25±1,48	9,35±1,32	8,78÷	8,33±2,04	18,73÷	9,01±1,74	12,10÷	

Изменение численности микроорганизмов почвы, загрязнённой заринном

Объект исследования	Период наблюдения, сутки	Контроль	Содержание зарины в почве, мг/кг					
			0,025		0,01		0,005	
		M±m	M±m	эффект воздействия, %	M±m	эффект воздействия, %	M±m	эффект воздействия, %
<i>E. coli</i>	0	50,05±3,26						
	1	56,00±1,97	31,30±1,03	44,1÷	34,90±2,87	37,7÷	54,54±4,95	2,6÷
	3	19,92±1,21	3,25±0,23	83,7÷	6,92±0,63	65,26÷	19,60±1,88	1,6÷
	7	41,87±3,98	22,06±1,88	47,3÷	26,30±1,96	37,17÷	32,53±3,99	22,3÷
	10	36,71±2,57	23,60±2,85	35,7÷	26,80±2,81	26,9÷	31,46±3,02	14,3÷
	14	63,50±5,53	48,50±3,96	23,6÷	56,20±4,83	11,5÷	58,80±5,99	7,4÷
Сапрофитные бактерии	0	15520,08±541,21						
	1	5716,7±547,65	3008,30±293,83	47,4÷	3425,00±349,25	40,1÷	5562,35±505,17	2,7÷
	3	10416,7±966,83	4087,51±307,52	60,8÷	7141,7±803,17	31,4÷	9281,28±888,28	10,9÷
	7	21900,00±2101,67	17812,50±1500,21	18,7÷	19633,3±1807,3	10,4÷	21440,1±1897,33	2,1÷
	10	8670,81±606,02	8550,00±781,31	1,4÷	7570,80±783,08	12,7÷	7500,25±901,25	13,5÷
	14	3500,30±389,45	3350,00±299,04	4,8÷	3458,30±201,83	1,2÷	3222,25±301,08	7,95÷

С учётом того, что в предыдущих исследованиях установлены недействующие концентрации зарины на почвенные грибы, данный биообъект был исключён из дальнейших опытов.

В ходе проведения экспериментов выявлено, что воздействие вещества в большем уровне сопровождалось достоверным снижением на третьи сутки численности патогенной и сапрофитной микрофлоры. Кроме того, у *E. coli* на 1 и 7 сутки и у сапрофитных бактерий на 1 сутки зарегистрировано близкое к критериально значимым (44,1-47,4%) уменьшение количества клеток.

Поступление зарины в почву в концентрации 0,01 мг/кг приводило к существенному снижению на третьи сутки только численности клеток *E. coli*.

Ещё большее снижение уровня воздействия зарины до концентрации 0,005 мг/кг не изменяло численности почвенных бактерий, что характеризует данную концентрацию зарины как недействующую.

Следует отметить, что установленное в вышеприведённых исследованиях первичное возрастание и последующее уменьшение численности тестерных бактерий свидетельствует об окончании переработки микробами внесённого в почву соединения [9].

В результате проведённых исследований установлены следующие пороговые концентрации зарины по воздействию на различные группы микробоценоза почвы: для почвенных грибов – 8,0 мг/кг; для сапрофитных бактерий – 0,025 мг/кг; для бактерий *Escherichia coli* – 0,01 мг/кг.

Основываясь на представленных данных, можно заключить, что наиболее чувствительным видом исследуемой микрофлоры почвы при поступлении тестируемого ксенобиотика являются бактерии *E. coli*. С учётом этого в качестве порога токсического воздействия зарины на микробоценоз почвы принято значение 0,01 мг/кг. Уровень зарины – 0,005 мг/кг определён как подпороговый.

Выводы. 1. Поступление в почву ипритно-люизитной смеси и зарины сопровождается токсическим влиянием на микробоценоз данной экосистемы.

2. Наиболее чувствительным тест-объектом при воздействии оцениваемых ксенобиотиков оказались бактерии *Escherichia coli*.

3. Зарин в концентрации 0,005 мг/кг и ипритно-люизитная смесь на уровне 3,0 мг/кг не оказывают отрицательного воздействия на микробоценоз почвы.

Список литературы

1. Конвенция о запрещении химического оружия. Проблемы ратификации (Доклад экспертов службы внешней разведки РФ в мае 1996 года) // Химическое оружие и проблемы его уничтожения, 1996. – № 2. – С. 5-9.

2. Минеев В.Г., Ремне Е.Х. Агрехимия, биология и экология почвы. – М.: Росагропромиздат, 1990. – 206 с.

3. Методические рекомендации по обоснованию ПДК химических веществ в почве. – изд.2-е Гос. № 2609-82. – М., 1982. – 57 с.

4. Методические указания по санитарно-микробиологическому исследованию почвы. МУ № 1446-76. – М., 1977. – 47 с.

5. Гончарук Е.И., Сидоренко Г.И. Гигиеническое нормирование химических веществ в почве: Руководство. — М.: Медицина, 1986. — 132 с.

6. Практикум по почвоведению / Под ред. И.С.Кауричева. — М.: Колос, 1990. — 279 с.

7. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д.Г.Звягинцева. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1980. — 224 с.

8. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии: Учеб. пособ. / Под ред. Н.П. Елинова. — М.: Медицина, 1988. — 208 с.

9. Мишустин Е.Н., Перцовская М.И., Горбов В.А. Санитарная микробиология почвы. — М.: Наука, 1979. — 304 с.

10. Методы санитарно-микробиологического исследования объектов окружающей среды / Под ред. Г.И.Сидоренко. — М.: Медицина, 1978. — 228 с.

11. Разумовская З.Г., Чижик Г.Я., Громов Б.В. Лабораторные занятия по почвенной микробиологии. — Л.: Издательство Ленинградского университета, 1960. — 184 с.

12. Елисеева И.И., Юзбашев Н.Н. Общая теория статистики. — М.: Статистика, 1991. — С. 118-121.

13. Шкодич П.Е.; Максимова Е.Ю., Демидова С.А. и др. Экспериментальное обоснование предельно допустимой концентрации зомана в почве: отчет о НИР. — Волгоград: НИИГТП, 2003. — 45 с.

Материал поступил в редакцию 20.10.05.

S.A.Demidova, Ye.Yu.Maksimova, A.A.Maslennikov, Ye.V.Yudina

EXPERIMENTAL EVALUATION OF TOXIC EFFECT POSED BY TOXIC AGENTS PRODUCING DERMATOVESICAL AND NEUROPARALYTIC ACTION ON SOIL MICROBIOCENOSIS

Research Institute of Hygiene, Toxicology, Occupational Pathology, Volgograd

Experimental investigations allowed to establish sub-threshold levels of exposure of soil microbocenosis to mustard gas and lewisite mixture (3 mg/kg) and zarin (0.005 mg/kg).

УДК 615.216:595.324:547.854

В.В.Зобов*, А.В.Ланцова, В.С.Резник, В.Д.Акамсин, И.В.Галяметдинова

РОЛЬ ОСОБЕННОСТЕЙ ХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ТЕТРААЛКИЛАММОНИЕВЫХ N-ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В ИЗБИРАТЕЛЬНОСТИ ИХ ВЛИЯНИЯ НА ЛОКОМОТОРНЫЕ МЫШЦЫ

Институт органической и физической химии им. А.Е.Арбузова Казанского научного центра Российской академии наук, Казань

Показано, что сочетание высоких уровней миорелаксантной активности и широты эффективного действия характерно для соединений с плоским N-гетероароматическим циклом, содержащим метадиазинный 2,4-диоксофрагмент и для веществ с существенным доминированием в спектре активности чрезвычайно высокой антихолинэстеразной над более слабой N-холиноблокирующей компонентой.

Ключевые слова: ингибиторы ацетилхолинэстеразы, тетраалкиламмониевые производные N-гетероциклов, миорелаксантная активность, широта эффективного действия.

Введение. Ранее нами было показано, что некоторые аммонипентильные производные 6-метилурацила являются высокоизбирательными и необратимыми ингибиторами ацетилхолинэстеразы (АХЭ; КФ 3.1.1.7) [1, 2], избирательно влияющими на работу локомоторных мышц ($DE_{50} \div 0,03$ мкМ/кг) и проявляющими высокую «фармакологическую безопасность» (широта эффективного действия $DL_{50}/DE_{50} >$

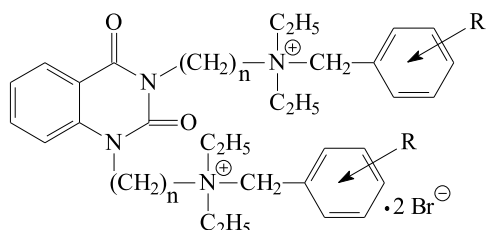
50,0) в тестах с функциональной нагрузкой [3]. Соединения также демонстрируют до 8 порядков более высокие уровни «экологической безопасности» ($CL_{50} > 10,0$ мкМ/л, дафнии), нежели фосфорилированные урацилы [4].

В развитие этих исследований мы синтезировали и изучили тетраалкиламмониевые производные других N-гетероциклов, содержащих метадиазинные 2,4-диоксофрагменты (рис.): хиназолиндиона (соединения 1-7), ксантина (соединения 8-11), аллоксазина (соединения 12-

* Фрагмент диссертационной работы

19), а также производные пириимидина (соединение 20) и барбитуровой кислоты (соединение 21). Активность данных соединений сравнивали с активностью аммиопентильных производных 6-метилурацила (соединения 22-24), описанных нами ранее [1-3].

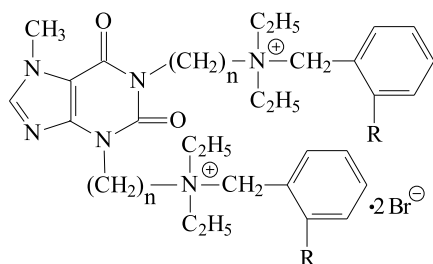
Материалы и методы исследования. Первичную токсикологическую оценку соединений при внутрибрюшинном (в/б) введении в виде вод-



соединения 1-7

$n = 4$ (1), 5 (2-6), 6 (7);

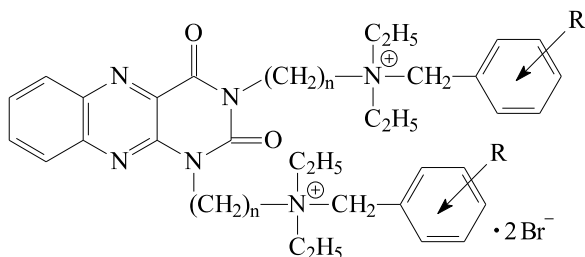
R = H (1, 2, 7), o-Br (3), o-NO₂ (4), o-CN (5), m-CN (6)



соединения 8-11

$n = 4$ (8), 5 (9, 10), 6 (11);

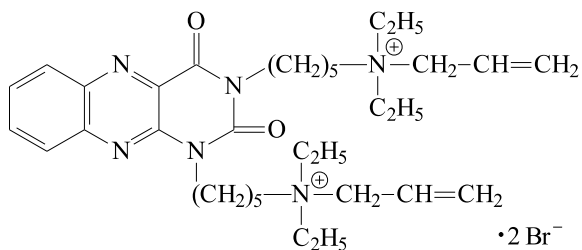
R = NO₂ (8, 9, 11), CN (10)



соединения 12-18

$n = 4$ (12), 5 (13-17), 6 (18);

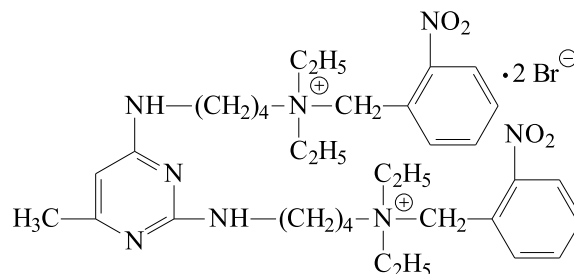
R = H (12, 13, 18), o-Br (14), o-NO₂ (15), o-CN (16), m-CN (17)



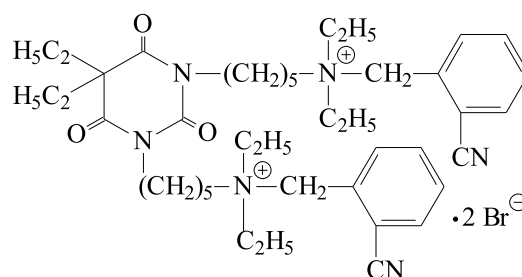
соединение 19

Рис.

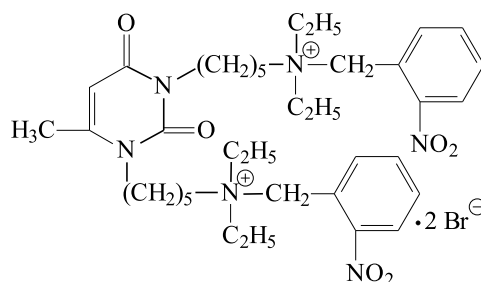
ных растворов проводили в острых опытах на нелинейных белых мышах обоего пола массой 19,0±2,0 г. В качестве показателей токсичности были избраны среднесмертельные дозы (DL₅₀; время наблюдения 72 ч). Для установления DL₅₀ каждое соединение вводили 4 группам мы-



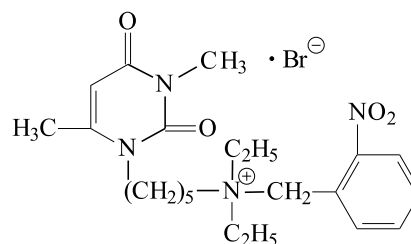
соединение 20



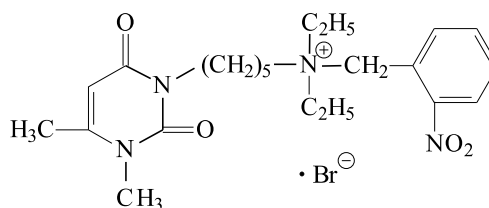
соединение 21



соединение 22 – лаб. шифр «№ 547»



соединение 23 – лаб. шифр «№ 627»



соединение 24 – лаб. шифр «№ 857»

шей (по 6 мышей на каждую дозу; $n = 24$). Симптоматику отравления соединениями при внутривенном их введении фиксировали на кроликах-самцах породы «советская шиншилла» массой 3,0-3,5 кг.

В качестве показателей миорелаксантами активности были избраны среднеэффективные (DE_{50}) дозы в тесте «бег на тротуаре» (Treadmill, Nihon Kohden STS-7500A/CC-730DA, Япония; 1 км/ч) [5], т.к. развитие миорелаксантами эффекта в условиях функциональной нагрузки является одним из основных и высоковоспроизводимых симптомов действия антихолинэстеразных средств [6]. Соединения и препараты сравнения вводили за 5 мин до начала выполнения физической нагрузки. Контрольным мышам вводился физиологический раствор. Критерием миорелаксантами активности соединений служила неспособность мышей выполнять бег на тротуаре в течение 30 мин. Для установления DE_{50} каждое соединение вводили 4 группам предварительно

тренированных мышей ($22,0 \pm 2,0$ г; по 8 мышей на каждую дозу; $n = 32$). В качестве критерия «фармакологической безопасности» соединений использовался параметр «широты эффективного действия» (DL_{50}/DE_{50}). Препаратами сравнения служили антихолинэстеразные средства – прозерина метилсульфат и BW284c51 (избирательный ингибитор АХЭ; Sigma).

У соединений 1, 2, 7, 12, 13, 15, 18, 19, 22-24, вызывающих наиболее отчетливую антихолинэстеразную симптоматику (кролики), были определены Н-холиноблокирующая и антихолинэстеразная активности. Исследование взаимодействия соединений с Н-холинорецепторами проводилось на препаратах изолированной прямой мышцы живота лягушки *Rana ridibunda* ($t^0 = 18-21^\circ\text{C}$, pH 7,3, карбоген). Ответы на введение ацетилхолина регистрировали изотоническими датчиками фирмы Ugo Basile (Италия), затем в ванночку кумулятивно добавляли изучаемые соединения. Константы диссоциации соедине-

Таблица 1

Биологическая активность соединений 1-24 в тесте «бег на тротуаре»

Соединение	DL_{50} , мкМ/кг	Миорелаксантами активность (DE_{50} , мкМ/кг)	Широта эффективного действия (DL_{50}/DE_{50})
1	6,52*# (5,62 ÷ 7,56)	1,96*# (1,67 ÷ 2,29)	3,33# (2,56 ÷ 4,11)
2	2,49* (2,11 ÷ 2,94)	0,62# (0,52 ÷ 0,75)	4,02# (2,92 ÷ 5,08)
3	1,59 (1,34 ÷ 1,89)	0,21* (0,18 ÷ 0,25)	7,57* (5,64 ÷ 9,36)
4	1,71 (1,48 ÷ 1,99)	0,08*# (0,07 ÷ 0,10)	21,38*# (15,77 ÷ 27,09)
5	1,40# (1,23 ÷ 1,59)	0,09*# (0,08 ÷ 0,11)	15,56* (11,70 ÷ 18,30)
6	1,17# (1,00 ÷ 1,35)	0,41# (0,35 ÷ 0,48)	2,85# (2,17 ÷ 3,55)
7	3,00* (2,53 ÷ 3,58)	1,50*# (1,27 ÷ 1,77)	2,00# (1,48 ÷ 2,52)
8	2,87* (2,50 ÷ 3,30)	0,80* (0,69 ÷ 0,93)	3,59# (2,79 ÷ 4,35)
9	1,67 (1,42 ÷ 1,97)	0,17* (0,14 ÷ 0,20)	9,82* (7,45 ÷ 12,55)
10	1,86 (1,61 ÷ 2,16)	0,09*# (0,08 ÷ 0,11)	20,67* (15,33 ÷ 24,67)
11	0,54*# (0,46 ÷ 0,63)	0,11*# (0,09 ÷ 0,13)	4,91 (3,73 ÷ 6,27)
12	4,88*# (4,21 ÷ 5,67)	1,83*# (1,57 ÷ 2,14)	2,67# (2,04 ÷ 3,29)
13	1,77 (1,46 ÷ 2,14)	0,07*# (0,06 ÷ 0,09)	25,29*# (17,75 ÷ 32,25)
14	2,51* (2,11 ÷ 2,99)	0,50# (0,43 ÷ 0,59)	5,02# (3,69 ÷ 6,31)
15	2,69* (2,26 ÷ 3,21)	0,22* (0,18 ÷ 0,26)	12,23* (9,05 ÷ 15,95)
16	1,66 (1,42 ÷ 1,94)	0,09*# (0,07 ÷ 0,11)	18,44*# (13,83 ÷ 23,67)
17	2,21* (1,94 ÷ 2,52)	0,44# (0,38 ÷ 0,52)	5,02 (3,90 ÷ 6,10)
18	2,29* (1,92 ÷ 2,72)	0,11*# (0,10 ÷ 0,13)	20,82*# (14,77 ÷ 25,23)
19	1,59 (1,36 ÷ 1,86)	0,79*# (0,67 ÷ 0,94)	2,01# (1,50 ÷ 2,50)
20	3,70*# (3,25 ÷ 4,22)	2,47*# (2,11 ÷ 2,89)	1,50*# (1,17 ÷ 1,83)
21	0,68*# (0,59 ÷ 0,79)	0,51# (0,42 ÷ 0,62)	1,33*# (0,98 ÷ 1,69)
22	1,17 (1,04 ÷ 1,31)	0,03* (0,03 ÷ 0,04)	39,00* (34,33 ÷ 43,67)
23	6,03* (5,34 ÷ 6,82)	0,30 (0,26 ÷ 0,34)	20,10* (16,18 ÷ 23,82)
24	2,61* (2,31 ÷ 2,95)	0,12* (0,11 ÷ 0,14)	21,75* (17,53 ÷ 25,81)
Прозерин	1,53 (1,34 ÷ 1,74)	0,39# (0,34 ÷ 0,45)	3,92# (3,11 ÷ 4,73)
BW284c51	2,12 (1,86 ÷ 2,42)	0,21* (0,18 ÷ 0,24)	10,10* (8,07 ÷ 12,13)

Примечание. Различия статистически значимы ($p < 0,05$) по отношению к: * – прозерину, # – BW284c51

ний получали методом Arunlakshana-Schild [7]. Об Н-холиноблокирующей активности соединений судили по величине pKB – отрицательного логарифма константы диссоциации комплекса «антагонист–холинорецептор». Исследование взаимодействия соединений с препаратом ацетилхолинэстеразы эритроцитов человека проводили методом потенциометрического титрования образующейся уксусной кислоты 0,02N раствором NaOH. Субстрат – ацетилхолина иодид в концентрации $2 \cdot 10^{-3}$ М. Антихолинэстеразную активность оценивали по величине pI_{50} – отрицательного логарифма концентрации соединения, снижающей активность фермента на 50%. 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; USA).

Результаты и обсуждение. Согласно классификации острой токсичности веществ для млекопитающих [8] соединения **1-24** относятся к высокотоксичным (мышь, в/б). В картине острого отравления мышей и кроликов соединениями **1-24** доминируют симптомы холиномиметического гипервозбуждения, характерные для действия антихолинэстеразных средств [9], а именно: избыточная саливация, бронхорея, слезотечение (часто хромодакриорея), мочеиспускание, диарея, бронхоспазм, одышка, цианоз. В скелетных мышцах наблюдаются признаки холинергической блокады, сопровождающейся генерализованными фасцикуляциями, судорожными подергиваниями, выраженной слабостью и «вялым» параличом локомоторных мышц, развитием острого респираторного пареза вплоть до апноэ. Уровни токсичности наиболее активных соединений сопоставимы с токсичностью прозерина и BW284c51.

Дисрегулирующее влияние соединений **1-24** на локомоторную активность зависело от введенной дозы и особенно отчетливо проявлялось в тесте «бег на третбане» (по сравнению с менее тяжелым для исполнения тестом «вращающийся стержень» [3]). На пике проявления антихолинэстеразной симптоматики – мышья теряли способность к бегу; повторные попытки к побежке приводили к усилению миорелаксанта эффекта («use-dependent effect»). Ширина эффективного действия соединений различалась в зависимости от особенностей химической структуры.

Как видно из табл. 1, наибольшую миорелаксанта активность (DE_{50} 0,03-0,22 мкМ/кг), а также широту эффективного действия ($DL_{50}/DE_{50} = 12,23-25,29$; тест «бег на третбане») проявляют соединения, в молекулах которых четвертичные атомы азота удалены от N-ге-

тероциклического фрагмента на расстояние, соответствующее 5 метиленовым группам (табл. 1; соединения **4, 5, 9, 10, 13, 15, 16, 22-24**). Характерно, что упрощение структуры бисониевого производного 6-метилурацила (соединение **22**) до моноониевых N^{1-} и N^{3-} изомеров (соединения **23** и **24**) снижает токсичность и миорелаксанта активность при сохранении достаточно высокого уровня DL_{50}/DE_{50} (около 20,0). Для производного аллоксазина **18** с $n = 6$ также характерен сравнительно высокий уровень активности и широты действия.

Другой особенностью химической структуры соединений с наибольшей миорелаксанта активностью и широтой действия является наличие в их тетраалкиламмониевых группировках наряду с этильными группами незамещенных (соединения **13, 18**) или орто-нитро-, орто-циан-замещенных бензильных радикалов (соединения **4, 5, 15, 16, 22-24**). Заместители и их положение в бензильном радикале оказывают существенное влияние на активность и широту действия соединений (сравнить соединения **2** и **3-6**, а также **13** и **14-17**). Введение аллильных радикалов при четвертичных атомах азота вместо бензильных сопряжено с низкими уровнями как активности, так и широты действия (соединение **19**).

Сходство структурных требований в ряду изученных хиназолиндионов, ксантинов, аллоксазинов и урацилов свидетельствует в пользу того, что диэтилбензиламмонийпентильные производные всех этих N-гетероциклов взаимодействуют с одной и той же биомшенью, а именно, с АХЭ. Последнее подтверждается выраженной антихолинэстеразной симптоматикой отравления животных соединениями **1-24**. Кроме то-

Таблица 2

Н-холиноблокирующая и антихолинэстеразная активность соединений

Соединение	pKB	$pI50$
1	8,7	6,5
2	9,8	7,3
7	8,7	8,0
12	6,0	7,6
13	5,5	9,4
15	5,6	$k^0 (АХЭ)^* = 1,5 \cdot 10^9 \text{ М}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$
18	7,0	10,3
19	6,1	6,0
22	6,6	$k^0 (АХЭ)^* = 3,5 \cdot 10^9 \text{ М}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$
23	5,8	8,3
24	5,6	$k^0 (АХЭ)^* = 8,0 \cdot 10^8 \text{ М}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$
Прозерин	<3,0	6,6
BW284c51	-	7,6

Примечание. * – по [2] (селективные ингибиторы АХЭ КФ 3.1.1.7)

го, в биохимических исследованиях *in vitro* зафиксирован чрезвычайно высокий уровень антихолинэстеразной активности у соединения **15**, демонстрирующий типичную для необратимых ингибиторов прогрессирующую во времени инактивацию АХЭ ($k^0 = 1,5 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$; эритроциты быка) [1]. Тем не менее, соединение **15** имеет не достаточно высокую широту действия ($DL_{50}/DE_{50} = 12,23$), что, возможно, связано с особенностями его фармакокинетики в организме.

Анализ зависимости «структура — активность» показывает, что для проявления высоких уровней миорелаксантажной активности и широты действия необходимы следующие особенности структуры N-гетероцикла (а) наличие метадиазинового 2,4-диоксо-фрагмента, (б) плоский характер N-гетероцикла и связанные с этим ароматические свойства. Отсутствие хотя бы одного из этих признаков, а именно, переход от урациловых производных к истинно пиримидиновому аналогу (соединение **20**) или к производному барбитуровой кислоты (соединение **21**), влечет за собой достоверное ($p < 0,05$) снижение миорелаксантажной активности и широты действия.

Вероятно, участок АХЭ, взаимодействующий с N-гетероциклическим фрагментом, способен «вмещать» достаточно объемный, но обязательно плоский ароматический цикл. Об этом свидетельствует сохранение сравнительно высоких значений миорелаксантажной активности и широты действия соединений в ряду производных урацила, хиनाзолиндиона, ксантина и аллоксазина. Однако дополнительное увеличение площади \div -системы у соединений **4**, **9**, **15** не приводит к росту миорелаксантажной активности и широты действия по сравнению с их урациловым аналогом (соединение **22**).

Принципиальным моментом представляется наличие в спектре действия тетраалкиламмониевых ингибиторов холинэстераз, помимо высокой антихолинэстеразной активности, и определенного уровня N-холиноблокирующей активности, «защищающей» нервно-мышечный синапс от последующего ингибирования поверхностно-локализованного «функционального пула» АХЭ. Как известно, последний избирательно доступен именно для катион-содержащих (тетраалкиламмониевых) солей [10]; при этом «резервный» (внутриклеточный) пул АХЭ сохраняется сравнительно интактным и может служить основой для поддержания жизни. Из данных табл. 2 видно, что, для соединений с высокими показателями миорелаксантажной активности ($DE_{50} < 0,1 \text{ мкМ/кг}$) и широты действия ($DL_{50}/DE_{50} > 10,0$) характерно существенное (на 3-4 порядка) доминирование в спектре их активности чрезвычайно высокой антихолинэстеразной компоненты над более слабой N-холиноблокирующей компонентой ($pI_{50} > pKB$) (табл. 2; аллоксазины **13**, **15**, **18**; урацилы **22**-

24). В том случае, если показатели N-холиноблокирующей активности доминируют над антихолинэстеразными или равны им ($pKB \div pI_{50}$) у соединений отмечаются низкие уровни миорелаксантажной активности и широты действия (табл. 2; хиназолиндионы **1**, **2**, **7**; аллоксазин **19**), несмотря на то, что симптоматика отравления остается типично антихолинэстеразной.

Нам представляется, что чрезвычайно высокий уровень антихолинэстеразной активности ($pI_{50} \div 9,0$) очень важен для проявления «феномена избирательной миорелаксации» локомоторного аппарата (табл. 1), поскольку и производное аллоксазина **12** ($pI_{50} = 7,6$, $pKB = 6,0$) и прозерин ($pI_{50} = 6,6$, $pKB < 3,0$), имеющие сравнительно низкие показатели антиферментной и антирецепторной активности, также демонстрируют низкие уровни миорелаксантажной активности и широты действия. Последнее характерно и для других антихолинэстеразных средств, а также для периферических миорелаксантов, имеющих односторонний механизм действия — либо антихолинэстеразный (фосфорорганические и карбаматные ингибиторы) [11], либо «курареподобный» (производные бензилизохинолина, аминостерина и др.) [12].

Сопоставление данных по активности соединений **1-24** *in vitro* и *in situ* (pI_{50} и pKB) с данными *in vivo* (DL_{50} , DE_{50} , DL_{50}/DE_{50} вкуче с симптоматикой отравления) говорит о том, что при объяснении причин проявления некоторыми из них «феномена избирательной миорелаксации» нельзя исходить только лишь из фармакодинамических посылок. Вероятно, дополнительный и существенный вклад вносят различия в морфофункциональной организации синаптических аппаратов мышц разного функционального типа (диафрагма/локомоторные) [12]. Известные различия в «факторах надежности» синаптической передачи дыхательных и локомоторных мышц [13] могут быть одной из причин различной их химической уязвимости к соединениям, в частности к изучаемым тетраалкиламмониевым ингибиторам холинэстераз.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о важной роли метадиазинового 2,4-диоксо- и бензильных фрагментов N-гетероциклических соединений в способности избирательно блокировать работу локомоторных мышц при минимальном влиянии на дыхание. Последнее свойство достигается при строго определенном сочетании противоположно направленных фармакодинамических свойств соединений (чрезвычайно сильное антихолинэстеразное и более слабое холинолитическое действие).

Работа поддержана грантом РФФИ (регион) № 03-04-96215, грантом НИОКР АН РТ 03-3.8-209 и грантом Президента РФ «Ведущая научная школа» НШ-1063.2003.4.

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. Аникиенко К.А., Бычихин Е.А., Курочкин В.К. и др. Новый класс ингибиторов холинэстераз — тетраалкиламмониевые производные 6-метилурацила: особенности взаимодействия с холинэстеразами разных групп животных // Доклады РАН, 2001. — Т. 376. — № 6. — С. 818-822.

3. 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.

4. Зобов В.В., Березинский Л.А., Резник В.С. и др. Биологическая активность фосфорилированных производных 6-метилурацила // Хим.-фарм. журнал, 2002. — Т. 36, -№11. — С. 21-22.

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

6. Hobbiger F. Pharmacology of anticholinesterase drugs. In: Handbook of exp. pharmacol., Ed. E.Zaimis,

Springer-Verlag Berlin, Heidelberg. N.Y., 1976. — V. 42. — Ch. 4C. — P. 486-581.

7. Arunlakshana O., Schild H.O. Some quantitative uses of drug antagonists // Brit. J. Pharmacol., 1959. — V. 14. — P. 48-58.

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

9. Элленхорн М. Дж. Медицинская токсикология: Диагностика и лечение отравлений у человека: В 2 томах. Пер. с англ. — М.: Медицина, 2003.

10. Моралев С.М., Розенгарт Е.В. Современные представления о структуре и каталитических свойствах холинэстераз позвоночных и беспозвоночных (обзор) // Ж. эволюционной биохимии и физиологии, 1999. — Т. 35. — № 1. — С. 3-14.

11. Прозоровский В.Б., Саватеев Н.В. Неантихолинэстеразные механизмы действия антихолинэстеразных средств. — Л.: Медицина, 1976. — 160 с.

12. Фармакология миорелаксантов / Под ред. Д.А.Харкевича. — М.: Медицина, 1989. — 288 с.

13. Wood S.J., Slater C.R. Safety factor at the neuromuscular junction // Progress in Neurobiology, 2001. — V. 64. — P. 393-429.

Материал поступил в редакцию 26.05.05.

V.V.Zobov, A.V.Lantsova, V.S.Reznik, V.D.Akamsin, I.V.Galyametdinova

ROLE OF CHEMICAL STRUCTURE SINGULARITIES OF TETRALKYL AMMONIA N-HETEROCYCLIC COMPOUNDS IN THEIR SELECTIVE INFLUENCE ON LOCOMOTIVE MUSCLES

A.Ye.Arbusov Research Institute of Organic and Physical Chemistry, Scientific Center of Kazan, Russian Academy of Sciences, Kazan

It is shown that the combination of the high level myorelaxation activity and the range of effective activity is characteristic for compounds with plane N-heteroaromatic cycle containing methadiazine 2,4-dioxo fragment and for those in which an extremely high anticholinesterase component considerably dominates over a weaker N-choline blocking component.

УДК 615.214.32.015.2:[615.31:546.711]

А.Н.Петров, М.К.Шевчук, Е.О.Кучер, А.В.Лычаков

ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ СОВМЕСТНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ МАРГАНЦА И ПИРАЦЕТАМА

ГУ Институт токсикологии МЗ РФ, Санкт-Петербург

Изучено влияние острой и хронической марганцевой интоксикации на процесс обучения и поведение экспериментальных животных на фоне лечения пирацетамом.

Ключевые слова: марганец, пирацетам, поведенческие реакции.

Введение. В последнее время появляется все больше информации о роли неблагоприятных факторов окружающей среды в развитии шизофрении, эпилепсии, различных форм психозов, болезни Паркинсона, умственной от-

сталости и др. заболеваний. Известно, что возникновение ряда заболеваний нервной системы связано с нарушением баланса определенных нейромедиаторов. Так, при некоторых формах шизофрении выявлен недостаток

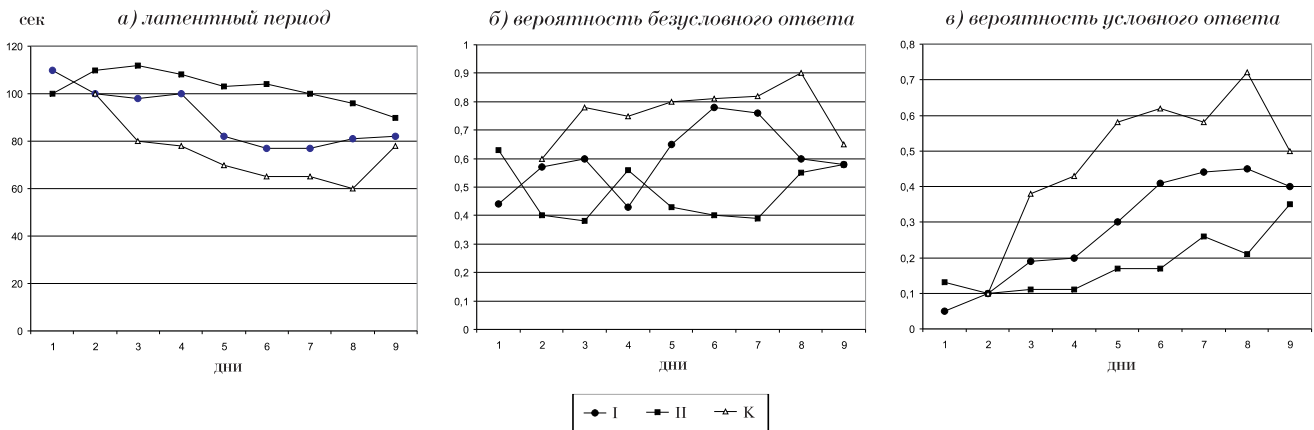


Рис. 1. Влияние однократного введения марганца на обучение крыс

I – группа, которой вводился хлористый марганец, II – группа, которой вводился марганец и пирацетам, III – контрольная группа.

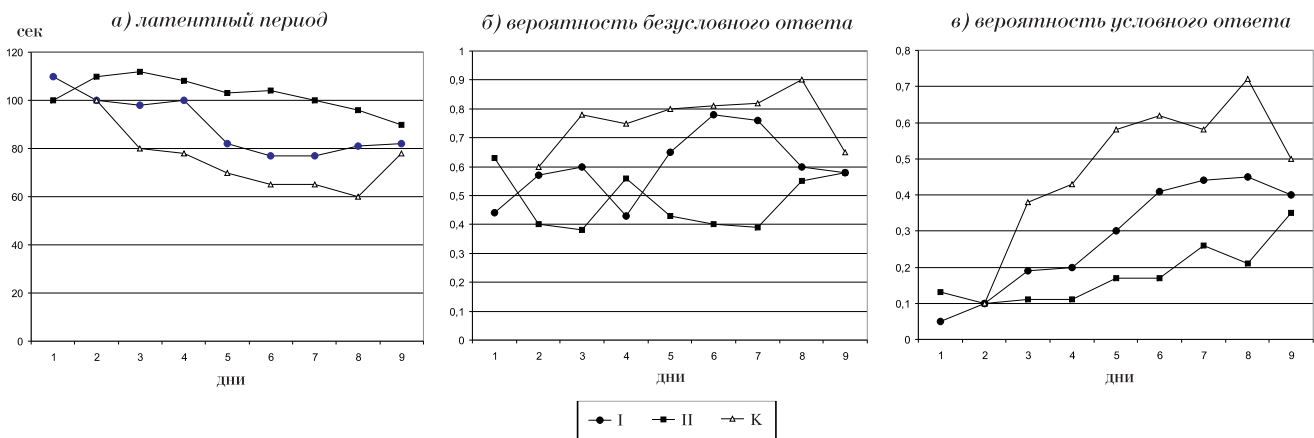


Рис. 2. Влияние хронического введения марганца на обучение крыс

Обозначения как на рис. 1.

тормозного медиатора ГАМК в коре головного мозга, при болезни Паркинсона – недостаток дофамина, при эпилепсии – дисбаланс между возбуждающими и тормозными медиаторами. Нарушение медиаторного баланса может быть обусловлено действием токсических веществ на клетки головного мозга, приводящее в ряде случаев к их разрушению. Такими токсикантами, вызывающими нарушения функционирования центральной нервной системы, являются, в частности, соли тяжелых металлов [2, 3]. С накоплением в головном мозге марганца, железа, кадмия, меди [4, 5] связывают патогенез некоторых дегенеративных процессов в головном мозге, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона.

Экспериментальные данные свидетельствуют о поведенческих нарушениях при совместном воздействии тяжелых металлов, таких, как кадмий, свинец и ноотропных препаратов, в частности, пирацетама или анксиолитика гидазепама, которые широко используются в клинической практике [1]. Эффект совместного применения ацетата свинца и пирацетама характеризу-

вался более выраженными нарушениями когнитивных функций, чем при применении одного ацетата свинца, что авторы объясняли структурными перестройками молекулы пирацетама под влиянием ацетата свинца с образованием значительного количества мономеров свинца в качестве промежуточных продуктов.

Целью настоящей работы было изучение влияния острой и хронической марганцевой интоксикации на обучение и поведение белых крыс на фоне лечения пирацетамом.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проводили на крысах-самцах в условиях острого и хронического воздействия хлористого марганца. В остром опыте исследовано влияние перорального введения хлористого марганца в дозе 50 мг/кг на память крыс по методике условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) в челночной камере и на процесс обучения при совместном введении с пирацетамом в дозе 300 мг/кг по методике условного рефлекса активного избегания (УРАИ). Хлористый марганец вводили за 1 ч, а пирацетам за 40 мин до обучения.

В хроническом эксперименте исследовано влияние длительного введения (30 дней) хлористого марганца в дозе 50 мг/кг на процесс обучения по методу УРАИ в челночной камере и на двигательную активность в тесте «открытое поле». Пирацетам вводили в дозе 100 мг/кг после прекращения введения токсиканта в течение 5 дней за 40 мин до обучения.

В остром и хроническом экспериментах обучение продолжалось 9 дней до достижения 70% обучения животных в контрольной группе.

Результаты исследования. Установлено, что введение хлористого марганца в хроническом эксперименте не влияло на поведение крыс в тесте «открытое поле» и не вызывало нарушений УРПИ при однократном введении токсиканта. В то же время оценка скорости формирования условных рефлексов с использованием УРАИ показала, что, как при остром, так и при хроническом пероральном введении хлористого марганца, наблюдаются нарушения этого процесса, наиболее выраженные при совместном введении хлористого марганца и пирацетама (рис.1, 2).

Так, у контрольных животных на 8-й день обучения латентный период реакции перехода составлял $59,1 \pm 8,7$ с, а доля обученных животных составила 71%, в то время, как для групп животных, получавших хлористый марганец и хлористый марганец с пирацетамом эти показатели составили $83,1 \pm 3,6$ с и $93,9 \pm 4,5$ с по латентному периоду реакции перехода и 45 и 22%, соответственно. В остром опыте у контрольных животных латентный период реакции перехода и до-

ля обученных животных составили 59,1 и 71%, в то время, как для групп животных, получавших хлористый марганец и хлористый марганец с пирацетамом эти показатели составили $92,6 \pm 8,1$ и $112,9 \pm 7,5$ с по латентному периоду реакции перехода и 34 и 13%, соответственно.

Заклучение. Острое и хроническое введение хлористого марганца вызывает у крыс нарушение процесса обучения, оцениваемое по методу УРАИ. Наибольший выраженный повреждающий эффект наблюдался при совместном введении марганца и пирацетама.

Полученные данные представляют практический интерес в связи с широким применением ноотропов в клинической практике для лечения когнитивных нарушений различного генеза.

Список литературы

1. Иноземцев А.Н., Бокиева С.Б., Карпущина О.В. и др. // 2-й съезд токсикологов России. Тезисы докладов. 10-13 ноября 2003 г. Москва. / Под общ. ред. акад. РАМН Г.Г.Онищенко и проф. Б.А.Курляндского. — М.: РПОХВ, 2003. — С. 122.
2. Chin-Chang, Nai Shin Chu, Chin Song Lu et al. // Arch. Neurol., 1999. — V. 46. October. — P. 1104-1106.
3. Gandham Sayi // Safety and Health Pract., 1997. — V. 15. — № 5. — P. 20-23.
4. Johnson S. // Med. Hypotheses, 2001. — V. 56. — № 6. — P. 595-597.
5. Mellik G.D., Buchanan D.D., Silburn P.A. // J. Clin. Neuroscience, 1999. — № 5. — P. 439.

Материал поступил в редакцию 18.05.05.

A.N.Petrov, M.K.Shevchuk, Ye.O.Kucher, A.V.Lychakov

BEHAVIORAL CONSEQUENCES OF A JOINT EXPOSURE BY MANGANESE AND PYRACETAMUM

State-owned Toxicology Institute, Ministry of Health of Russia, St. Petersburg

Studies were conducted on the impact of acute and chronic manganese intoxication on taming and behavior of laboratory animals while treated with paracetamum.

УДК 615.21.074

Т.Е.Онбыш, В.Е.Погорелый, Л.М.Макарова, Н.Е.Слюнькова

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙРОПРОТЕКТОРОВ ПРИ ВВЕДЕНИИ МЕТГЕМОГЛОБИНОБРАЗОВАТЕЛЯ

Пятигорская государственная фармацевтическая академия

Экспериментально показано, что в условиях гемической гипоксии экстракт гинкго билоба, винпоцетин, ницерголин и нимодипин способствуют повышению времени жизни животных, а применение циннаризина и пикамилона не оказывает влияния на данный показатель.

Ключевые слова: метгемоглобинемия, натрия нитрит, гипоксия, нейропротекторы.

Введение. Гемическая гипоксия обусловлена уменьшением кислородной емкости крови в

результате нескольких причин: дефицита объема циркулирующих эритроцитов и низкой кон-

центрации гемоглобина в крови, снижения кислородсвязывающих свойств гемоглобина за счет его окисления до метгемоглобина, а также избыточного сродства гемоглобина к кислороду [1, 9, 15]. При метгемоглобинемии наблюдается патологическое накопление (свыше 1%) метгемоглобина в эритроцитах вследствие нарушения соотношения между скоростью окисления гемоглобина в метгемоглобин и скоростью его восстановления.

Патологически высокая концентрация метгемоглобина в крови может развиваться вследствие врожденных нарушений деструкции метгемоглобина, содержания в крови патологических форм гемоглобина, устойчивых по отношению к физиологическим механизмам, а также вследствие токсического окисления двухвалентного иона железа в молекуле восстановленного гемоглобина [9, 12, 16]. Установлено, что многие соединения, используемые в быту, на производстве, в сельском хозяйстве, медицине способны повышать скорость окисления гемоглобина в сотни и тысячи раз [4]. К агентам, способным окислять гемоглобин как непосредственно, так и при их метаболизме, следует отнести, в первую очередь, нитриты и нитраты (натрия, калия, аммония), оксид азота (II), гидразин, арсин, производные анилина, метилнитрофоса, хлоратов, хиноинов, амидо- и нитропроизводные. Следует отметить, что смертельные случаи от метгемоглобинемий, вызванных неорганическими нитритами, далеко не редкость. Развитие метгемоглобинемии может возникнуть также при приеме ряда лекарственных средств – нитроглицерина, викасола, некоторых сульфаниламидов, анестезина, парааминосалициловой кислоты, препаратов нитрофуранового ряда, противомаларийных средств и др. [4, 14].

Метгемоглобин является продуктом окисления гемоглобина, в котором железо становится трехвалентным. Эта форма гемоглобина не способна отдавать кислород, создавая тем самым дефицит кислорода в органах и системах организма. Известно, что даже временное уменьшение поступления кислорода в организм может привести к патологическим изменениям в органах и тканях, а наиболее уязвимыми к кислородной недостаточности являются центральная нервная система, миокард, почки и печень [2, 5, 11].

Учитывая, что метгемоглобинемия нередко является причиной смерти, лекарственная профилактика и терапия состояний, связанных с образованием окисленных форм гемоглобина, являются актуальной проблемой токсикологии.

Для оценки эффективности применения лекарственных средств при состояниях, характеризующихся метгемоглобинообразованием, часто используют модель гемической гипоксии, вызываемой натрием нитритом [7, 8]. Мощное метгемоглобинообразующее действие нитритов под-

тверждено большим количеством лабораторных экспериментов и клинических наблюдений. В настоящий момент глубоко изучены механизмы метгемоглобинообразования, которые, в первую очередь, связаны с образованием ряда радикальных метаболитов: $\text{NO}_2\cdot$, $\text{O}_2\cdot$, $\cdot\text{OH}$, $\text{NO}_2\cdot$. Последние оказывают выраженное окисляющее действие, взаимодействуя с SH-группами белков, восстановленными формами коферментов, полиненасыщенными физиологически активными соединениями [3, 6, 13].

Оксид азота (NO) является эндогенным регулятором, участвующим в различных физиологических процессах – передаче сигналов в мозге, регуляции сердечно-сосудистой, иммунной, пищеварительной и мочеполовой систем [6, 12]. Острая гипоксия вызывает гиперпродукцию NO, значительно превышающую физиологический уровень его синтеза [1, 12]. Гиперпродукция NO оказывает повреждающее действие на клетку за счет прямых и опосредованных механизмов. Так, в сердечно-сосудистой системе гиперпродукция NO приводит к резкой вазодилатации, утрате реакций сосудов на вазоконстрикторные стимулы, что приводит к выраженной гипотензии [1, 6, 12]. В результате избыточной продукции NO образуются пероксинитриты, которые ингибируют белки митохондриальной дыхательной цепи, что приводит к снижению продукции АТФ и нарушению кальциевого гомеостаза. Кроме того, пероксинитриты способствуют повреждению ДНК и клетки в целом.

Учитывая цитотоксическое действие NO и выраженную чувствительность к кислородному голоданию нервной системы, целью нашего исследования явилось изучение влияния нейропротекторов на изменение времени жизни лабораторных животных при введении донатора NO – натрия нитрита.

Материалы и методы исследования. Эксперименты выполнены на 80 белых мышках-самцах массой 18-20 г. В качестве метгемоглобинообразователя использовали нитрит натрия, который вводили в дозе 200 мг/кг внутрибрюшинно.

Объектами исследования явились широко применяемые нейропротекторы: циннаризин (100 мг/кг), нимодипин (0,4 мг/кг), ницерголин (8 мг/кг), пикамилон (100 мг/кг), винпоцетин (15 мг/кг) и экстракт гинкго билоба (120 мг/кг). При выборе пути введения учитывали путь введения препаратов в клинической практике. Все объекты исследования вводили инъекционно (внутрибрюшинно), а экстракт гинкго билоба – перорально в дозах эквивалентных дозам человека в пересчете на животное.

Контрольной группе животных вводили раствор натрия хлорида изотонический. Объем вводимой жидкости во всех группах животных был эквивалентным.

Для исключения случайных влияний все жи-

вотные содержались в стандартных условиях.

Критерием антигипоксического эффекта являлось увеличение продолжительности жизни мышей в опытной группе в сравнении с контрольной группой животных.

Статистическую обработку результатов проводили внутри серий по t-критерию Стьюдента (методом попарных сравнений), между сериями – по критерию инверсий Вилкоксона-Манна-Уитни, с применением стандартного пакета программ «Statistika» для Windows и Microsoft Excel [10].

Результаты и обсуждение. В контрольной серии опытов продолжительность жизни животных при введении метгемоглобинообразователя составила $23,4 \pm 0,58$ мин (табл.). Профилактическое введение экстракта гинкго билоба способствовало увеличению времени жизни животных до $30,5 \pm 0,59$ мин, а введение нимодипина – до $36,0 \pm 0,36$ мин. Применение винпоцетина и ницерголина также повышало устойчивость мышей к воздействию токсического агента, увеличивая время их жизни до $30,5 \pm 0,59$ мин и $27,5 \pm 1,0$ мин соответственно. У животных, которым вводили пикамилон, продолжительность времени жизни в условиях гемической гипоксии составила лишь $25,0 \pm 0,70$ мин, а применение циннаризина приводило даже к уменьшению исследуемого показателя до $22,0 \pm 0,47$ мин.

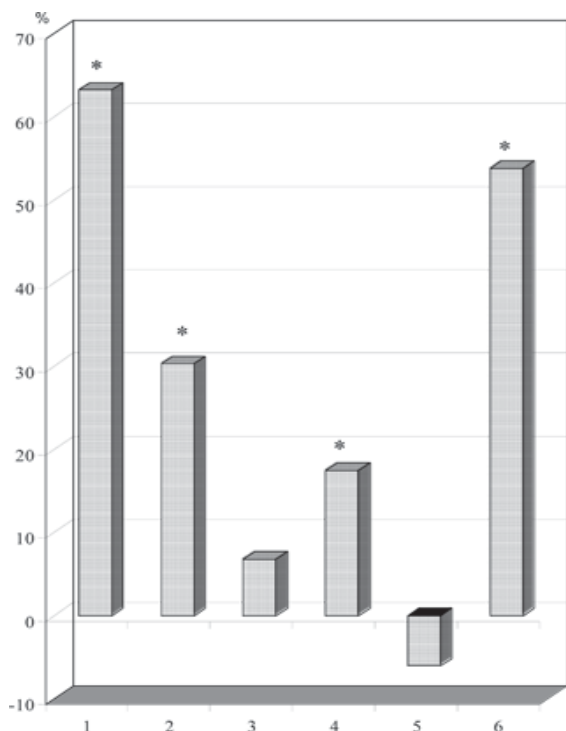


Рис. Антигипоксическая активность нейропротекторов при гемической гипоксии

Ось абсцисс: 1 – экстракт гинкго билоба; 2 – винпоцетин; 3 – пикамилон; 4 – ницерголин; 5 – циннаризин; 6 – нимодипин.

Ось ординат: изменение времени жизни животных (%) относительно контрольной группы.

Для корректной оценки эффективности исследуемых нейропротекторов в условиях метгемоглобинообразования представляется целесообразным рассмотреть их противогипоксической активности в виде изменения времени жизни животных (в %) относительно контрольной группы (рис.).

Таблица

Время жизни животных при введении нитрита натрия

Объект исследования	Время жизни, мин
контрольная группа	$23,4 \pm 0,58$
гинкго билоба	$38,2 \pm 0,99^*$
винпоцетин	$30,5 \pm 0,59^*$
пикамилон	$25,0 \pm 0,70$
ницерголин	$27,5 \pm 1,0^*$
циннаризин	$22,0 \pm 0,47$
нимодипин	$36,0 \pm 0,36^*$

Примечание. * – $p < 0,05$ относительно контроля

Анализируя полученные результаты, следует отметить, что при моделировании гемической гипоксии среди исследуемых нейропротекторов наиболее значимое увеличение время жизни животных относительно контрольной группы (на 63,2%) наблюдали при применении экстракта гинкго билоба. Введение блокатора кальциевых каналов нимодипина также существенным образом (на 53,8%) способствовало пролонгации жизни лабораторных животных при введении натрия нитрита.

У животных, которым вводили винпоцетин и ницерголин, наблюдали менее выраженный противогипоксический эффект: время жизни увеличивалось на 30,3 и 17,5%, соответственно.

Введение нейропротекторов циннаризина и пикамилона не способствовало повышению устойчивости организма при метгемоглобинемии.

Выводы. 1. Экспериментально установлено, что введение экстракта гинкго билоба, винпоцетина, ницерголина, нимодипина способствует повышению времени жизни животных в условиях метгемоглобинообразования, а наиболее выраженный эффект выявлен при применении экстракта гинкго билоба и нимодипина.

2. Применение циннаризина и пикамилона в условиях гемической гипоксии не оказывает влияние на показатель выживаемости животных.

Список литературы

1. Башкатова В.Г., Вицкова Г.Ю., Наркевич В.Б. и др. Возможная роль оксида азота в патогенезе модельных судорожных состояний различной природы // Бюл. экспер. биол., 1998. – Т. 125. – № 1. – С. 26.

2. Виленский Б.С. Инсульт: профилактика, диагностика, лечение. – СПб: ООО «Издательство «Фолиант», 2002. – 397 с.

3. **Виноградов В.М., Урюпов Ю.Ю.** Гипоксия как фармакологическая проблема // *Фармакология и токсикология*, 1985. — Т. 48. — № 4. — С. 9-20.

4. **Герман С.В.** Метгемоглобинемии: особенности патогенеза и клиники // *Клиническая медицина*, 1999. — № 4. — С. 9-13.

5. **Дюмаев К.М., Воронина Т.А., Смирнов Л.Д.** Антигипоксанты в профилактике и терапии патологий ЦНС. — М., 1995. — 272 с.

6. **Ещенко Н.Д., Путилина Ф.Е., Галкина О.В.** Реакции, связанные с энергетическим метаболизмом мозга, и их адаптивные изменения при гипоксии // *Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция: Материалы Третьей Российской конференции 7-9 октября 2002 г.* — М.: Издательство РАМН, 2002. — С. 48.

7. **Зузук Б.М., Куцук Р.В., Томчук Ю.И. др.** Гинкго билоба: Аналитический обзор // *Провизор*, 2001. — № 22. — С. 30-32.

8. **Иванова И.А., Бобков Ю.Г.** Сравнительное изучение некоторых препаратов на различных моделях гипоксии мозга // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*, 1984. — Т. 98. — № 11. — С. 567-570.

9. **Костющенков В.Н., Фаращук Н.В.** Влияние фармакологических средств на развитие гемической гипоксии // *Фармакология и токсикология*, 1982. — № 1. — С. 76-79.

10. **Макаров В.А., Реккандт С.А.** Патология: Учебник. — Пятигорск, 1998. — 375 с.

11. **Машковский М.Д.** Лекарственные средства: В 2-х т. — 14-е изд., перераб. и доп. / М.Д. Машковский. — М.: Новая волна, 2000.

12. **Петренко Ю.М., Шашурин Д.А., Титов В.Ю.** Новые источники окиси азота, их возможная физиологическая роль и значение // *Экспериментальная и клиническая фармакология*, 2001. — Т. 64. — № 2. — С. 72-79.

13. **Хватова Е.М., Загоскин П.П., Фокин В.М. и др.** Состояние энергетики мозга и активность ферментативных процессов в разных условиях гипоксии // *Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция: Материалы Третьей Российской конференции 7-9 октября 2002 г.* — М.: Издательство РАМН, 2002. — С. 139.

14. **Тино Г., Гриппи М.А.** Транспорт газов к периферическим тканям и обратно. Патофизиология легких. — 3-е изд., испр. — М.-СПб.: «Издательство БИНОМ»; «Невский диалект», 2001. — С. 144-162.

15. **Шевченко Ю.Л.** Гипоксия адаптация, патогенез, клиника. — СПб.: ООО «ЭЛБИ-СПб», 2000. — 384 с.

16. **Шугалей И.В., Целинский И.В., Малинина Т.В.** О токсическом действии нитрита натрия // *Гигиена и санитария*, 1991. — № 4. — С. 49-53.

Материал поступил в редакцию 24.05.05.

T.Ye.Onbysh, V.Ye.Pogoreliy, L.M.Makarova, N.Ye.Slyunkova

COMPARATIVE STUDY OF ANTIHYPOXIC ACTIVITY OF NEUROPROTECTIVE AGENTS AT ADMINISTRATION OF METHEMOGLOBIN FORMER

State Pharmaceutical Academy of Pyatrigorsk

It was experimentally shown that extracts of ginkgo biloba, vinpocetine, nicergoline, and nimodipine make life span of animals longer at hemic hypoxia but cinnarizine and picamilonum do not influence this indicator.

УДК 615.9:615.281:577.112.382-389

Л.Б.Бондаренко, Н.А.Сапрыкина*, В.Н.Коваленко

ПУЛ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ПЕЧЕНИ КРЫС В НОРМЕ И ПРИ ВВЕДЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ПИРАЗИНАМИДА

Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины, Киев

В условиях эксперимента на крысах проведена клиническая оценка влияния пиразинамида на метаболизм аминокислот, протеинов, нуклеотидов, нуклеиновых кислот и энергетический обмен.

Ключевые слова: пиразинамид, пул свободных аминокислот, метаболизм.

Введение. В процессе интенсивной химиотерапии туберкулеза широко используются пиразинамид и его производные [1]. Противоречи-

вые результаты, полученные разными авторами при оценке его гепатотоксичности в экспериментальных и клинических исследованиях [2], обусловили необходимость более детального изучения степени и механизмов отрицательного

* Фрагмент диссертационной работы

воздействия данного соединения на организм с целью оптимизации режимов химиотерапии.

Кроме того, длительное применение антибактериальных препаратов приводит к различным функциональным и биохимическим сдвигам [3]. Традиционные биохимические исследования позволяют выявить такие нарушения на этапе, когда их коррекция уже представляет значительные трудности. Для раннего обнаружения возможных отклонений метаболических преобразований в организме в целом и его отдельных органах одним из наиболее чувствительных показателей является пул свободных аминокислот [4-6]. Свободные аминокислоты участвуют в интеграции регуляторных и адаптивных систем организма [7]. Исследование изменений их содержания характеризует состояние внутренних резервов организма, степень дезинтеграции метаболизма в целом и адаптивные возможности организма и его отдельных органов [6].

Целью данной работы являлось изучение пула свободных аминокислот печени крыс при введении различных доз пиразинамида.

Материалы и методы исследований. В экспериментах использовали самцов белых крыс линии Вистар массой тела 160-200 г разведения вивария Института фармакологии и токсикологии АМН Украины, которых содержали в стандартных условиях с соблюдением пищевого и водного режимов.

В опытах использовали пиразинамид в таблетках по 500 мг действующего вещества в каждой производств. Борщаговского химико-фармацевтического завода (Украина).

После предварительного карантина на протяжении 10-ти дней крыс разделяли на опытные и контрольные группы методом рандомизации.

Водный раствор пиразинамида в дозах 1000 и 2000 мг/кг массы тела вводили внутривенно металлическим зондом самцам крыс (соответственно 1 и 2 группа) на протяжении 60 суток. Контрольной группе крыс внутривенно вводили дистиллированную воду.

В течение всего времени введения препарата наблюдали за состоянием животных, их внешним видом и двигательной активностью.

На следующий день после окончания введения пиразинамида животных умерщвляли методом цервикальной дислокации под легким эфирным наркозом. Выделяли печень и сыворотку крови. Печень отмывали через воротную вену охлажденным 1% раствором KCl и гомогенизировали в 0,1М К-фосфатном буфере (рН 7,4) в соотношении 1:3. Все процедуры выполняли с соблюдением холодового режима ($t +4^{\circ}\text{C}$).

Полученный гомогенат оставляли стоять на 30 мин при $t +4^{\circ}\text{C}$. После этого к гомогенату

прибавляли равный объем 3% сульфосалициловой кислоты и оставляли стоять на 10 мин при $t +4^{\circ}\text{C}$. Образовавшийся осадок отделяли центрифугированием (5000g, 10 мин, 4°C). Супернатант содержал пул свободных аминокислот печени. Содержание свободных аминокислот определяли на аминокислотном анализаторе ААА-881 (Чехия).

Содержание гексоз в сыворотке крови определяли антроновым методом [8].

Полученные данные подвергали статистической обработке согласно общепринятым методам вариационной статистики. Достоверность изменений оценивали с помощью t-критерия Стьюдента, считая разницу достоверной при значении $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Исследование влияния пиразинамида на пул свободных аминокислот печени крыс самцов показало (табл.), что наибольшее количество изменений данных показателей наблюдается при условии введения препарата в дозе 1000 мг/кг. В данном случае достоверные отличия от нормы отмечались по содержанию 16 отдельных аминокислот и по общей сумме аминокислот.

Дальнейшее увеличение дозы препарата до 2000 мг/кг вело к уменьшению числа достоверных отличий — достоверно изменялось содержание лишь 9 аминокислот. При этом по содержанию орнитина, глутаминовой кислоты и глутамина с увеличением дозы отмечали изменения характера эффекта пиразинамида на данные аминокислоты. Учитывая тот факт, что эти соединения являются ключевыми в энергетическом, углеводном, азотистом обменах и биосинтезе пиримидинов (и последующего образования нуклеиновых кислот) [9], отмеченные нами отличия в эффектах различных доз пиразинамида, возможно, обусловлены серьезными нарушениями метаболических преобразований в организме при дозе 2000 мг/кг, которые уже не могут быть, даже частично, компенсированы его защитными и адапторными системами.

Это предположение подтверждается также и изменениями индекса Фишера (Вал+Лей+Илей/Фен+Тир), который характеризует уровень развития эндотоксикоза в организме [10]: в норме он составляет 2,72, при дозе 1000 мг/кг — 1,34, а при дозе 2000 мг/кг — 0,77. Увеличение суммы свободных аминокислот, как соединений с низкими и средними молекулярными массами, также является одним из ведущих показателей развития эндотоксикоза [10].

Кроме того, соотношение количества аминокислот с разветвленной боковой цепью к аминокислотам, содержащим ароматические группировки, характеризует уровень печеночной эн-

цефалопатии, вызванной изменениями концентраций данных пяти аминокислот, которые, поступая из печени в плазму крови, конкурируют между собой за проникновение через гематоэнцефалический барьер [11]. Введение пиразинамида обуславливает в печени возникновение синдрома дисаминоцидемии, заключающегося в дисбалансе между содержанием ароматических аминокислот и аминокислот с разветвленной структурой. При этом изменения коэффициента Фишера происходят главным образом за счет повышения уровня фенилаланина и тирозина при относительно более слабо выраженных колебаниях уровней валина, лейцина и изолейцина.

При введении пиразинамида изменяется и соотношение незаменимых аминокислот к заменимым: в норме оно составляет – 0,205, при дозе 1000 мг/кг – 0,367, а при дозе 2000 мг/кг – 0,381. При этом увеличение соотношения происходит в основном за счет роста содержания незаменимых аминокислот, тогда как количество большинства заменимых аминокислот остается неизменным или незначительно повышается при дозе 1000 мг/кг пиразинамида, а при 2000 мг/кг – даже снижается (изменения содержания Орн, Асп, Глу, Про, Глн). Такие изменения свидетельствуют о значительных нарушениях процессов биосинтеза аминокислот и протеинов [9]. Способность пи-

разинамида воздействовать на процессы биосинтеза белка подтверждаются и результатами исследования эффекта данного соединения на включение C^{14} -глицина в белки печени [12].

К тому же, поскольку транспорт незаменимых аминокислот происходит при участии глутатиона, встроенного в клеточную мембрану, изменение уровня незаменимых аминокислот может быть обусловлено нарушением их транспорта за счет глутатион-опосредованного цикла [9]. Снижение уровня глутатиона под влиянием пиразинамида было отмечено в работах ряда авторов [13]. Наблюдаемое в наших экспериментах при введении 2000 мг/кг пиразинамида достоверное снижение содержания глутаминовой кислоты, вместе с глицином и цистеином входящей в состав глутатиона, также может опосредовать ингибирующий эффект данного препарата на биосинтез глутатиона.

Увеличение суммарного количества глюкогенных аминокислот при введении обеих доз пиразинамида может отразиться на интенсивности процессов образования гликогена в печени, глюконеогенеза и уровне глюкозы в плазме крови. Это предположение нашло свое подтверждение при изучении нами уровня глюкозы в сыворотке крови: в норме он составлял $125,95 \pm 1,70$ мг%, при введении 1000 мг/кг пиразинамида –

Таблица

Содержание свободных аминокислот и их амидов печени крыс самцов в норме и при введении различных доз пиразинамида ($M \pm m$, $n = 5$, мг/100 г влажной ткани)

Вещество	Норма	Пиразинамид 1000 мг/кг	Пиразинамид 2000 мг/кг
Лизин	7,30±0,86	21,80±1,74*	9,40±1,23
Гистидин	5,80±0,46	12,6±0,86*	9,30±0,43*
Аргинин	0,40±0,06	0,10±0,01	0,60±0,01
Орнитин	1,70±0,06	12,50±1,14*	0,70±0,06*
Аспарагиновая кислота	20,00±2,31	20,40±0,56	9,40±0,33*
Треонин	4,20±0,27	10,90±0,83*	5,60±0,76
Серин	3,30±0,12	16,50±1,34*	8,70±1,20*
Глутаминовая кислота	38,00±1,57	50,50±1,58*	26,10±1,60*
Пролин	3,20±0,36	4,00±0,37	2,10±0,66
Глицин	15,40±1,45	20,30±1,24*	17,80±1,13
Аланин	26,20±1,21	45,30±1,98*	29,00±5,51
Цистеин	0,60±0,19	1,10±0,21	1,20±0,10*
Валин	2,60±0,46	8,81±0,87*	4,00±0,80
Метионин	1,60±0,42	5,20±0,56*	2,80±0,45
Изолейцин	2,00±0,35	5,90±0,60*	2,50±0,45
Лейцин	5,20±0,11	15,30±0,91*	5,60±0,45
Тирозин	1,90±0,27	13,40±1,34*	9,00±0,70*
Фенилаланин	1,70±0,41	8,40±0,76*	6,70±0,58*
Глутамин	39,70±3,57	56,90±8,00	18,00±2,00*
Сумма аминокислот	196,50±3,66	329,00±18,00	168,50±17,00

Примечание. * – $p < 0,05$ по отношению к норме

141,84±4,32 мг% ($p < 0,05$), при введении 2000 мг/кг пиразинамида – 131,06±8,96 мг% ($p > 0,05$). Снижение уровня глюконеогенеза при большей дозе препарата, очевидно, связано с усугублением процессов эндотоксикоза и истощением адаптационных возможностей энзиматических систем печени. Отрицательное влияние пиразинамида на гликогенобразовательную функцию печени отмечали и другие авторы [3]. Кроме того, результаты экспериментов с гепатоцитами *in vitro* показали, что пиразинамид (0,25-5,0 mM) потенцировал триптофан-опосредованное ингибирование глюконеогенеза [14].

При введении пиразинамида, очевидно, серьезно нарушается и способность печени поддерживать нормальный уровень процессов расщепления избытка аминокислот в цикле мочевины, о чем свидетельствуют изменения содержания орнитина и глутамина. К тому же глутамин является важнейшей транспортной формой аммиака от всех органов в плазму крови [9]. При снижении его концентрации частично эту функцию могут выполнять свободные аланин, серин, глицин и аспарагиновая кислота [9]. Однако при максимальной дозе пиразинамида содержание аспарагиновой кислоты и глутамина достоверно вдвое снижается по сравнению с нормой. Это не может не отразиться на ходе процессов обмена азота в печени и организме в целом.

Триптофан, серин, пролин и тирозин способны выступать в качестве депо NO, который не только отвечает за релаксацию сосудов, но и реагирует с атомами железа (в составе гема и в свободном состоянии), с супероксиданионами, молекулами кислорода, перекисью водорода, органическими перекисями и перекисными радикалами [15]. Таким образом, отмеченные нами изменения содержания серина и тирозина при введении обеих доз пиразинамида отразятся также на уровне NO, состоянии процессов перекисного окисления и функционировании сосудистой системы, печени, легких и организма в целом [16]. Полученные результаты вполне согласуются с данными других авторов, обнаруживших регуляторное влияние пиразинамида на уровень NO в организме [17]. Кроме того, свободный тирозин способен взаимодействовать с пиразинамидом и его производными и модифицировать их биологический эффект [18].

При введении пиразинамида происходят достоверные изменения содержания аминокислот, включенных в процессы биосинтеза пуринов и пиримидинов (аспарагиновой кислоты, глицина, глутамина, гистидина, серина) [9], следовательно, изменения их содержания могут отразиться на процессах биосинтеза нуклеотидов, нуклеиновых кислот и состоянии хромосомного

аппарата клетки. Такой эффект пиразинамида, возможно, связан с его регулирующим влиянием на обмен НАД [19] и биосинтез полинуклеиновых кислот в ядре клетки [20].

Согласно данным ряда авторов ранними проявлениями нарушений глубинных процессов репарации ДНК на уровне реакций ее метилирования могут являться нарушения концентраций свободных цистеина и метионина [21], отмеченные и в наших экспериментах.

Пиразинамид в исследуемых дозах вызывает, очевидно, серьезные нарушения не только обменов нуклеиновых кислот, аминокислот и протеинов, но и энергетического обмена. Выявленные нами изменения содержания глицина, серина, цистеина и аланина могут являться следствием нарушения процессов их обмена, тесно связанных с процессами гликолиза [9], а изменения содержания аспарагиновой и глутаминовой кислот, глутамина, пролина, аргинина – с процессами цикла Кребса [9]. Полученные результаты согласуются с данными других авторов, изучавших влияние пиразинамида на энергетический обмен [3, 14, 20].

Что касается фенилаланина и тирозина, то печень является основным местом их метаболизма [9]. Пораженная печень не может полностью катаболизировать данные аминокислоты, и они накапливаются в тканях и сыворотке крови. Наибольшие изменения по фенилаланину и тирозину были выявлены при дозе 1000 мг/кг пиразинамида. При этой же дозе было наиболее снижено и соотношение Фен/Тир, отражающее интенсивность процессов гидроксилирования фенилаланина до тирозина именно в печени. В норме этот показатель составлял 0,895, при дозе 1000 мг/кг – 0,627, а при дозе 2000 мг/кг – 0,744, что свидетельствует о значительных нарушениях функционирования фенилаланин-гидроксилазы в печени при введении пиразинамида.

Ряд авторов показал, что повышенные концентрации таурина, изолейцина, лейцина и валина способны нормализовать углеводный обмен в печени при ее токсическом поражении [22]. Одновременное увеличение содержания валина, лейцина и изолейцина может в свою очередь активировать процессы липогенеза из глюкозы и стимулировать процессы биосинтеза белков в печени [23]. Очевидно, таким образом, и реализуется отмеченное другими авторами стимулирующее влияние пиразинамида на биосинтез белка в печени [12]. Учитывая это, отмеченное нами увеличение содержания валина, изолейцина, лейцина при введении пиразинамида в дозе 1000 мг/кг может рассматриваться как адаптационная реакция организма на поступление ксенобиотика.

На способность пиразинамида стимулировать адаптационные системы организма указывает и увеличение содержания метионина в пуле печени. Данная аминокислота может выступать в качестве антиоксиданта и иммуномодулятора [7]. Кроме того, метионин является предшественником таурина – антиоксиданта и стабилизатора мембран. Поэтому его накопление можно рассматривать как защитный механизм [7]. Из метионина в процессе метаболических преобразований синтезируются также и полиамины – стимуляторы и регуляторы пролиферативных процессов [7]. Очевидно, выявленные изменения содержания данной аминокислоты под влиянием 1000 мг/кг пиразинамида могут привести к стимуляции адаптивных перестроек организма и его иммунной системы. При дальнейшем увеличении дозы пиразинамида происходит исчерпание адаптационных возможностей организма.

При введении пиразинамида в дозе 1000 мг/кг может нарушаться биосинтез S-аденозилгомоцистеина, гомоцистеина и метионина. На это указывают изменения содержания метионина, глицина и серина – аминокислот, участвующих в обмене данного соединения [9]. Следствием повышения концентрации гомоцистеина является накопление гидроперекисных радикалов, способных поражать клетки эндотелия [21].

Заключение. Изучение изменений содержания свободных аминокислот в пуле печени крыс при введении различных доз пиразинамида позволило провести комплексную оценку влияния данного соединения на метаболизм аминокислот, протеинов, нуклеотидов, нуклеиновых кислот и энергетический обмен. При введении 1000 мг/кг пиразинамида наблюдается наибольшее количество изменений данных показателей, часть из которых может рассматриваться в качестве компенсаторного ответа организма на действие данного ксенобиотика. Увеличение дозы пиразинамида до 2000 мг/кг ведет к исчерпанию адаптационных возможностей организма.

Список литературы

1. **Wada M.** *The adverse reactions of anti-tuberculosis drugs and its management // Nippon Rinsho, 1998. – V. 56. – № 12. – P. 3091-3095.*
2. **Сливка Ю.И.** *Сравнительная характеристика гепатотоксичности изониазида, рифампицина и пиразинамида // Фармакол. токсикол., 1989. – Т. 52. – № 4. – С. 82-85.*
3. **Характер Ж.З.** *Действие туберкулостатических препаратов на углеводно-фосфорный обмен в печени и легких, зараженных туберкулезом животных // Вопр. мед. хим., 1968. – Т. 14. – № 6. – С. 601-605.*

4. **Fau D.** *Imbalance through lysine excess and correction by a threonine supplement, as a function of nutritional status // Ann. Nutr. Aliment., 1975. – V. 29. – № 4. – P. 321-335.*

5. **Li J.Y.** *Sequential changes of free amino acid pool in burned rabbits // Zhonghua Zh., 1991. – V. 7. – № 3. – P. 208-211.*

6. **Нечипоренко Н.А., Нефедов Л.И., Климович И.И.** *Изменение белкового обмена и фонд свободных аминокислот при раке мочевого пузыря // Вопр. онкол., 1990. – Т. 36. – № 10. – С. 1201-1205.*

7. **Павлов В.А.** *Влияние микобактерий на адаптивную перестройку в организме морских свинок при длительном воздействии на них ПАУ-содержащих веществ // Пробл. туберкулеза, 1998. – № 1. – С. 51-53.*

8. **Колб В.Г., Камышников В.С.** *Клиническая биохимия. – Минск: Беларусь, 1976. – 312 с.*

9. **Marks D.B.** *Biochemistry / Ed. Williams & Wilkins. Baltimore, 1994. – P. 234-249.*

10. **Ерехин И.А., Шашков Б.В.** *Эндотоксикоз в хирургической практике. – СПб.: Логос, 1995. – 304 с.*

11. **Fisher J.E., Rosen H.M., Ebeid A.M. et al.** *The effect of normalization of plasma amino acids on hepatic encephalopathy in man // Surgery, 1976. – V. 80. – № 1. – P. 77-91.*

12. **Григорян В.Г., Киришча В.С.** *Влияние ПАСК и пиразинамида на некоторые показатели обмена белка в митохондриях печени морских свинок // Вопр. мед. хим., 1973. – Т. 19. – № 5. – С. 480-482.*

13. **Dhuley J.N.** *Hepatoprotective effect of rhinax on antitubercular drug-induced hepato-toxicity in rats // Hindustan Antibiot. Bull., 2002. – V. 44. – № 1-4. – P. 53-59.*

14. **Cook J.S., Pogson C.I.** *Tryptophan and glucose metabolism in rat liver cells. The effect of DL-6-chlorotryptophan, 4-chloro-3-hydroxyanthranilate and pyrazinamide // Biochem. J., 1983. – V. 214. – № 2. – P. 511-516.*

15. **Стенуро И.И.** *Роль аминокислот и белков в обмене оксида азота // Матер. конф. «Аминокислоты и их производные в биологии и медицине». – Гродно, 2001. – С. 104.*

16. **Zhang H.Y., Han D.W., Wang X.G. et al.** *Experimental study on the role of endotoxin in the development of hepatopulmonary syndrome // World J. Gastroenterol., 2005. – V. 11. – № 4. – P. 567-572.*

17. **Wanchu A., Bhatnagar A., Khullar H. et al.** *Antitubercular therapy decreases nitric oxide production in HIV/TB coinfecting patients // BMC Infect. Dis., 2002. – V. 2. – № 1. – P. 15-17.*

18. **Herman R.P., Weber M.M.** *Isoniazid interaction with tyrosine as a possible mode of action of the drug in mycobacteria // Antimicrob. Agents Chemother., 1980. – V. 17. – № 2. – P. 170-178.*

19. **Shibata K., Fukuwatari T., Sugimoto E.** *Effects*

of dietary pyrazinamide, an antituberculosis agent, on the metabolism of tryptophan to niacin and of tryptophan to serotonin in rats // *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2001. — V. 65. — № 6. — P. 1339-1346.

20. **Nasu S., Yamaguchi K., Sakakibara S. et al.** The effect of pyrazines on the metabolism of tryptophan and nicotinamide adenine dinucleotide in the rat. Evidence of the formation of a potent inhibitor of amino-carboxy-muconate-semialdehyde decarboxylase from pyrazinamide // *Biochim. Biophys. Acta*, 1981. — V. 677. — № 1. — P. 109-119.

21. **Dimitrova C.R., DeGroot K., Myers A.K. et al.** Estrogen and homocysteine // *Cardiovascular Res.*, 2002. — V. 53. — P. 577-588.

22. **Мискевич Д.А.** Влияние введения некоторых неполярных аминокислот на состояние углеводного обмена в печени крыс на фоне тиаоацетамидного гепатита // *Матер.конф. «Аминокислоты и их производные в биологии и медицине»*. — Гродно, 2001. — С. 79-80.

23. **Данченко Е.О., Нехайчик Е.Н.** Инсулиноподобный эффект растительного гепатотропного препарата, содержащего аминокислоты с разветвленными радикалами // *Матер.конф. «Аминокислоты и их производные в биологии и медицине»*. — Гродно, 2001. — С. 32-33.

Материал поступил в редакцию 10.06.05.

L.B.Bondaremko, N.A.Saprykina, V.N.Kovalenko

POOL OF FREE AMINO ACIDS IN RAT LIVER AT A NORMAL RATE AND AT ADMINISTRATION OF DIFFERENT DOSES OF PYRAZINAMIDE

Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev

In experiment on rats a clinical assessment was conducted of the impact of pyrazinamide on metabolism of aminoacids, proteins, nucleotides, nucleic acids and energy metabolism.

УДК 615.31.099.036.11.07:547.962.3

А.С.Лукьянов

КОНФОРМАЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОВАЛЬБУМИНА КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова

Анализируются экспериментальные данные по воздействию на овальбумин *in vitro* химических соединений, использованных в токсикологических исследованиях по международной программе МЕИС. Воздействие на овальбумин сравнивается с острой токсичностью соединений для человека и животных и различных культур клеток. Материалы работы подтверждают гипотезу о том, что токсический эффект на клетки организма для большинства соединений определяется неспецифическим связыванием вне и внутриклеточных белков, высказанную ранее Б. Экволом, а также перспективность использования подобных тестов для замены экспериментов на животных в токсикологии.

Ключевые слова: альтернативы экспериментам на животных, острая токсичность, овальбумин, денатурация, неспецифическое связывание белков.

Исследования были выполнены в рамках международной программы МЕИС (multicentre evaluation of *in vitro* cytotoxicity), организованной скандинавским обществом клеточных токсикологов в 1989 г. [1]. Работа завершилась в 1996 г. и по ее итогам было опубликовано четыре специальных выпуска журнала *ATLA* [2-9]. Небольшая часть нашей работы вошла в итоговые материалы [5, 7]. Цель программы состояла в оценке возможности определять острую токсичность химических соединений для человека с помощью так называемых альтернативных методов, т.е. мето-

дов, в которых не используются живые высокоорганизованные животные. Приоритет имеют альтернативные методы на культурах клеток человека и млекопитающих и именно они в наибольшей мере были представлены в программе МЕИС. В программе приняли участие более тридцати лабораторий, оценено более 60 альтернативных методов. Комиссия и рабочая группа Программы представила список из 50 химических соединений, токсичность которых необходимо было определить [1]. Принцип подбора веществ — максимальное разнообразие и наличие

данных о токсичности для человека. Цель нашей работы состояла в оценке возможности использования для определения острой токсичности химических соединений для человека простой модели – конформационные изменения белков *in vitro*. При этом мы исходили из того очевидного факта, что именно белки определяют основные функции и жизнедеятельность клеток и организма в целом. На первом этапе исследования мы использовали овальбумин. После завершения Программы в 1996 г. работа была продолжена с использованием итоговых материалов Программы [2-9] и расширив область исследования, проведя аналогичную работу с ферментом ацетилхолинэстеразой [10]. В настоящей статье представлены итоги исследования с использованием овальбумина.

Материалы и методы исследования. Работа проведена с овальбумином производства фирмы Sigma (98%, grade V). Химические соединения для тестирования в соответствии со списком программы МЕИС были любезно предоставлены нам координатором этой программы доктором Бьерном Экволом (производства ведущих фирм мира, чистота веществ не менее 98%).

Непосредственно перед тестированием овальбумин растворяли в изотоническом растворе (0,9% NaCl) при комнатной температуре в концентрации 60-150 мг/мл и затем смешивали с растворенными в том же растворе химическими соединениями, при этом конечная концентрация овальбумина составляла 20 мг/мл. Смесь аккуратно и тщательно перемешивали. Плохо растворимые в воде соединения предварительно растворяли в одном из растворителей – метаноле или диметилсульфооксиде (DMSO) – и затем смешивали с изотоническим раствором NaCl. Конечная концентрация метанола и DMSO в смесях не превышала 6 и 16%, соответственно. Эти предельные концентрации вызывали увеличение оптической плотности растворов овальбумина на 2-5%, поэтому такое же количество растворителей добавляли и в контрольные образцы (раствор овальбумина в концентрации 20 мг/мл).

Тестируемые и контрольные образцы инкубировали в термостате при температуре $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в течение 2-х или 5-ти часов. Конформационные перестройки овальбумина под воздействием тестируемых препаратов оценивали по увеличению оптической плотности опытных образцов по сравнению с контрольными, определяемой спектрофотометрически по поглощению света при длине волны 400 нм. Измерения осуществляли на приборе Specol 10. Таким образом, мы оценивали довольно грубые изменения в белковом матриксе, обычно имеющие место при денатурации и преципитации белка.

Перед каждым опытом проводили контрольные замеры – позитивный и химический контроль. Позитивный – оценивали действие на тестовый раствор овальбумина кислоты (0,1M HCl). Физико-химический контроль – оценивали возможность в случае низкой растворимости соединений преципитации при температуре 37°C и изменения цвета раствора в течение эксперимента. Испытывали 6-10 концентраций каждого из тестируемых препаратов в четырех повторностях. Результаты измерения тестовых и контрольных образцов сравнивались с использованием критерия Стьюдента и в дальнейшем учитывали только данные с достоверным различием ($p < 0,05$). По результатам каждого отдельного опыта строили кривую концентрация – ответ, при этом использовали три вида аппроксимации: логистическая кривая, линейная и экспоненциальная зависимости. Вид аппроксимации выбирали исходя из оценки методом наименьших квадратов. По аппроксимирующей кривой вычисляли эффективные концентрации: SE_{10} и SE_{50} – увеличение оптической плотности тестируемого образца по сравнению с контрольным на 10 и 50%, соответственно. При обработке результатов экспериментов использовали стандартные методы статистической обработки данных. По четырем опытам вычисляли среднее арифметическое SE_{10} и SE_{50} и их стандартное отклонение. Сравнительный анализ данных осуществляли путем вычисления коэффициентов корреляции и коэффициентов линейной регрессии.

Результаты и обсуждение. Экспериментальные данные были получены для 40 препаратов из 50, включенных в список программы МЕИС. Для калия цианида (№ 19), малатиона (№ 15) и инкотина (№ 18) не удалось получить достоверные результаты, т.к. в нашем распоряжении было недостаточное их количество. Диазепам (№ 4), дигоксин № 6), натрия хлорид (№ 13), ксилен (№ 17), паракуват дихлорид (№ 25) и углерод тетрагидрид (№ 34) либо не давали ответа, либо при максимально возможной их концентрации реакция была ниже, чем SE_{10} для овальбумина. Железа сульфат (№ 3) вызывал реакцию, но при этом раствор окрашивался, что не позволило провести измерения с достаточной точностью. Результаты тестирования для остальных веществ представлены в табл. 1. Для нескольких из них (№ 14, 21, 30, 37, 46 и 50) из-за низкой растворимости и эффективности удалось получить только значение SE_{10} .

Проведенный сравнительный анализ полученных наших результатов и экспериментальных итоговых данных тестирования тех же веществ с использованием культур клеток человека и жи-

Таблица 1

Экспериментальные данные о денатурации овальбумина (эффективные концентрации химических соединений, вызывающие повышение экстинкции раствора овальбумина на 10% – CE_{10} и 50% – CE_{50})

№ по списку МЕИС	Соединение	$CE_{10} \pm SD$ (lg M)		$CE_{50} \pm SD$ (lg M)	
		T = 2 ч	T = 5 ч	T = 2 ч	T = 5 ч
1	Парацетамол	-1,32±0,11	-1,66±0,34	-0,67±0,01	-0,73±0,02
2	Ацетилсалициловая кислота	-3,34±0,01	-3,43±0,02	-2,52±0,01	-2,61±0,03
5	Амитриптилин гидрохлорид	-3,20±0,03	-3,43±0,11	-2,62±0,02	-2,75±0,03
7	Этиленгликоль	0,88±0,08	0,75±0,12	0,99±0,02	0,94±0,03
8	Метанол	0,34±0,20	0,27±0,19	0,60±0,03	0,56±0,02
9	Этанол	0,17±0,05	0,12±0,06	0,37±0,03	0,32±0,01
10	Изопропанол	-0,06±0,12	-0,11±0,13	0,15±0,03	0,12±0,03
11	1,1,1-Трихлорэтан	-0,39±0,05	-0,46±0,03	-0,15±0,02	-0,27±0,03
12	Фенол	-1,39±0,02	-1,45±0,01	-1,15±0,01	-1,20±0,01
14	Натрия фторид	-0,32±0,03	-0,37±0,02	-	-
16	2,4-Дихлофеноксиксусная кислота	-3,26±0,13	-3,64±0,23	-2,71±0,02	-2,75±0,02
20	Лития сульфат моногидрат	-0,44±0,06	-0,54±0,05	0,02±0,01	0,01±0,01
21	Теофиллин	-1,56±0,01	-1,63±0,05	-	-
22	Декстропропоксифен гидрохлорид	-2,77±0,01	-2,84±0,02	-2,05±0,02	-2,14±0,01
23	Пропранолол гидрохлорид	-2,56±0,04	-2,68±0,05	-2,05±0,03	-2,12±0,02
24	Фенобарбитал	-2,21±0,07	-2,78±0,49	-1,57±0,01	-1,56±0,01
26	Мышьяка триоксид	-1,92±0,05	-2,25±0,31	-1,81±0,04	-2,19±0,05
27	Меди (II) сульфат, пентагидрат	-3,58±0,82	-3,92±0,22	-2,86±0,01	-3,00±0,02
28	Ртуты (II)хлорид	-3,24±0,04	-3,36±0,07	-2,10±0,05	-2,44±0,03
29	Тиоридазин гидрохлорид	-3,92±0,06	-4,12±0,20	-3,23±0,01	-3,25±0,01
30	Таллия (I) сульфат	-2,42±0,06	-2,70±0,11	-	-
31	Варфарин	-3,25±0,09	-3,33±0,07	-2,74±0,02	-2,82±0,03
32	Линдан	-3,35±0,02	-3,42±0,04	-2,89±0,04	-2,96±0,04
33	Хлороформ	-0,44±0,01	-0,45±0,01	-0,32±0,01	-0,33±0,01
35	Изониазид	-0,93±0,12	-1,12±0,16	0,05±0,03	-0,02±0,01
36	Дихлорметан	-0,02±0,01	-0,03±0,01	0,02±0,12	0,01±0,14
37	Бария нитрат	-1,39±0,08	-1,51±0,07	-	-
38	Гексахлорофен	-3,38±0,01	-3,41±0,02	-3,08±0,01	-3,15±0,01
39	Пентахлорфенол	-3,44±0,02	-3,52±0,03	-3,17±0,01	-3,20±0,01
40	Верапамил гидрохлорид	-3,01±0,02	-3,07±0,01	-2,30±0,02	-2,38±0,01
41	Хлорохин дифосфат	-2,46±0,08	-2,54±0,11	-1,68±0,03	-1,81±0,04
42	Орфенадрин гидрохлорид	-2,79±0,06	-3,12±0,04	-2,00±0,01	-2,05±0,01
43	Хинидин сульфат	-3,20±0,01	-3,26±0,01	-2,44±0,01	-2,52±0,01
44	5,5-Дифенилгидантоин,енол,натриевая соль	-2,82±0,03	-3,46±0,09	-2,42±0,02	-2,51±0,01
45	Хлорамфеникол	-2,57±0,24	-2,73±0,16	-1,77±0,02	-1,84±0,04
46	Натрия оксалат	-0,90±0,04	-0,92±0,03	-	-
47	Амфетамин сульфат	-1,84±0,01	-1,88±0,01	-1,12±0,01	-1,17±0,01
48	Кофеин	-1,27±0,04	-1,30±0,02	-0,60±0,07	-0,81±0,03
49	Атропин сульфат	-2,07±0,02	-2,15±0,01	-1,36±0,01	-1,46±0,01
50	Калия хлорид	0,46±0,02	0,30±0,01	-	-

Примечание. T – длительность эксперимента в часах. SD – стандартное отклонение среднего арифметического. Для всех веществ число измерений n = 4.

вотных [4, 5] (итоговые материалы программы МЕИС) показал (табл. 2), что данные по оваль-

бумину хорошо коррелируют (R^2) с данными по ингибированию клеточных культур человека и

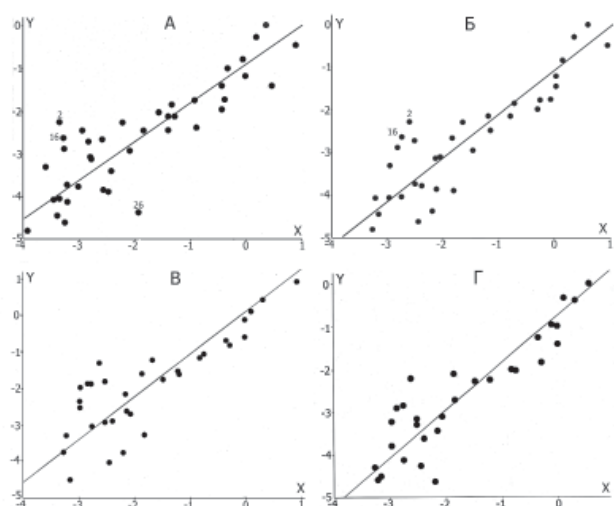


Рис. 1. Взаимосвязь между токсичностью для культур клеток и показателями конформационных изменений овальбумина

Ось ординат (Y): среднее значение CI_{50} для культур клеток человека (А и Б) (10 методов длительностью 24 ч), млекопитающих (В) (4-7 методов длительностью 24 ч) и рыб (Г) (метод 48: RTG-2 – содержание АТФ, длительность 48 ч) в IgM; числовые данные взяты из материалов программы МЕИС [4, 5]).

Ось абсцисс (X): CE_{10} (экспозиция 2 ч) (А) и CE_{50} экспозиция 5 ч (Б, В и Г) для овальбумина в IgM.

Линии регрессии:

А) $y = 0,917x - 0,876$; $R^2 = 0,76$; $n = 40$;

Б) $y = 1,052x - 1,005$; $R^2 = 0,79$; $n = 34$;

В) $y = 1,154x - 0,964$; $R^2 = 0,76$; $n = 34$;

Г) $y = 1,110x - 0,760$; $R^2 = 0,84$; $n = 31$.

животных (CI_{50}). На рис. 1 (А – Г) эта корреляционная связь показана графически. Для культур клеток человека $R^2 = 0,73-0,79$, для культур клеток млекопитающих – $0,67-0,73$ и для культур клеток рыб – $0,73-0,84$. Наибольшие значения R^2 получены для CE_{50} при экспозиции 5 ч. Как видим, высокая корреляция имеет место со всеми культурами клеток. Этому соответствует и очень высокая корреляция между ингибированием культур клеток человека, млекопитающих и рыб (*Rainbow trout*) (R^2 больше 0,9; см. табл. 3). Это свидетельствует о том, что механизмы токсического действия на клеточном уровне близки у разных представителей позвоночных.

Наиболее интересен сам факт высокой корреляции данных по овальбумину с данными по культурам клеток. Он указывает на то, что причиной токсичности для клеточных культур могут быть неспецифические конформационные изменения экстраклеточных и внутриклеточных белков, вызывающие нарушение их функций. Это предположение было высказано ранее Б.Экволом [11, 12] в виде гипотезы общей (базальной) цитотоксичности. Согласно концепции Б.Эквола можно выделить три категории токсичности химических соединений: экстраклеточная, органоспецифическая и базальная (общая) цитотоксичность. По

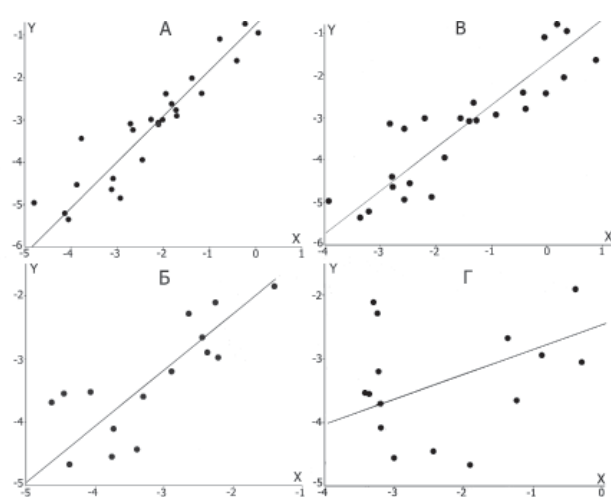


Рис. 2. Взаимосвязь между значениями пиковой летальной концентрации в крови человека с токсичностью для культур клеток человека и воздействием на овальбумин для веществ, проходящих и не проходящих через ГЭБ

Ось ординат (Y): пиковая летальная концентрация в крови человека для кривой CL_{50} в IgM. Ось абсцисс (X): среднее значение CI_{50} для культур клеток человека (А, Б) (10 методов длительностью 24 ч) и CE_{10} 2 ч экспозиции (В, Г) в IgM. Числовые данные для Y и А, Б взяты из опубликованных материалов программы МЕИС [4, 5]).

А и В – для веществ, свободно проходящих ГЭБ; Б и Г не проходящих через ГЭБ. Учтены только те точки (вещества), для которых получены значения CE_{10} овальбумина.

Линии регрессии:

А) $y = 1,085x - 0,743$; $R^2 = 0,91$; $n = 25$.

Б) $y = 0,891x - 0,496$; $R^2 = 0,62$; $n = 15$.

В) $y = 1,018x - 1,670$; $R^2 = 0,79$; $n = 25$.

Г) $y = 0,407x - 2,396$; $R^2 = 0,08$; $n = 15$.

данным Б.Эквола для большинства токсикантов характерна базальная цитотоксичность. Этот вид токсичности можно выявлять по воздействию на неспециализированные клеточные линии, т.к. ее механизмы не специфичны. Итоги программы МЕИС, включающие и наши результаты, подтверждают гипотезу о базальной токсичности [8, 9].

Вернемся к анализу наших результатов. Следует сказать о несоответствии действующих концентраций токсикантов для овальбумина и культур клеток (рис. 1). Различия могут составлять более одной логарифмической единицы, что можно объяснить тем, что мы использовали не внутриклеточный белок и очень грубые показатели конформационных изменений – денатурацию и преципитацию. Наши аналогичные эксперименты, в которых мы использовали как показатель токсического действия подавление активности ацетилхолинэстеразы, подтвердили это. Следует отметить также, что различия в действующих концентрациях токсикантов для культур клеток и овальбумина могут определяться и неодинаковой их способностью токсикантов проникать и накапливаться в клетках, при этом внутриклеточные и

Таблица 2

Корреляционная связь (R^2 , линейная регрессия) между показателями токсичности для культур клеток (средние значения CI_{50}) и денатурацией овальбумина (средние значения для CE_{10} и CE_{50}).

Ингибирование культур клеток (CI_{50} в lg M)	Денатурация овальбумина CE_{10} (lg M)						Денатурация овальбумина CE_{50} (lg M)					
	T = 2 ч			T = 5 ч			T = 2 ч			T = 5 ч		
	R^2	n	a	R^2	n	a	R^2	n	a	R^2	n	a
Человек (среднее значение для 10 методов), T = 24 ч	^A 0,76	40	0,92	0,73	40	0,88	0,76	34	1,07	0,79	34	1,05
	^B 0,87	25	0,93	0,83	25	0,88	0,88	23	1,10	0,88	23	1,09
Млекопитающие (среднее значение для 4-7 методов), T = 24 ч	^A 0,69	40	0,98	0,67	40	0,94	0,73	34	1,17	0,76	34	1,15
	^B 0,86	25	0,94	0,82	25	0,89	0,87	23	1,12	0,87	23	1,11
Рыбы – метод 46 (RTG-2, protein content), T = 48 ч	^A 0,74	37	0,96	0,73	37	0,93	0,78	31	1,14	0,80	31	1,12
	^B 0,89	22	0,99	0,88	22	0,94	0,92	20	1,15	0,93	20	1,14
Рыбы – метод 47 (RTG-2, NRU uptake), T = 48 ч	^A 0,75	37	0,96	0,74	37	0,92	0,81	31	1,13	0,83	31	1,11
	^B 0,90	22	0,95	0,89	22	0,90	0,91	20	1,10	0,92	20	1,10
Рыбы – метод 48 (RTG-2, ATP content), T = 48 ч	^A 0,74	37	0,96	0,73	37	0,92	0,81	31	1,13	0,84	31	1,11
	^B 0,89	22	0,95	0,88	22	0,91	0,93	20	1,12	0,94	20	1,11

Примечание. * – Числовые данные взяты из [4, 5]. T – продолжительность опыта в часах. n – число точек (веществ, для которых получены экспериментальные данные по CE для овальбумина). a – коэффициент регрессии (наклон). ^A – строка для всех веществ. ^B – строка для веществ, свободно проходящих гематоэнцефалический барьер. Для культур клеток рыб отсутствуют данные для веществ № 22, 24 и 47 [5].

внеклеточные концентрации могут отличаться на порядок и более. Например, вещества 2, 16 и 31 являются кислотами и очень плохо проникают в клетки, в то время как вещества 5, 22 и 41 интенсивно накапливаются в клетках [6].

Корреляционная связь между воздействием на овальбумин и культуры клеток существенно увеличивается, если рассматривать только вещества, свободно проходящие гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) (табл. 2). Список таких веществ с описанием их свойств приведен в [6]. Это вещества № 1, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 21, 22, 23, 24, 29, 32, 33, 35, 36, 41, 42, 44, 45, 47, 48, 49 и 50. R^2 в этом случае принимает следующие значения: для культур клеток человека – 0,83 – 0,88; млекопитающих – 0,82 – 0,87; рыб – 0,88 – 0,94. 18 веществ из этого списка (№ 7, 8, 9, 10, 11, 12, 22-24, 32, 33, 36, 42, 44, 45, 47 и 48) вызывают смерть через неспецифическую депрессию ЦНС иногда с предшествующим возбуждением и ча-

сто в совокупности с аритмией и сердечной недостаточностью [7]. Депрессия ЦНС обычно вызывается очень быстро (от нескольких минут до суток). Вещества № 5, 29, 41, 49 и 50 также вызывают депрессию ЦНС, но летальное действие – это сердечная аритмия, № 21 и 35, скорее всего, вызывают смерть за счет перевозбуждения ЦНС. Вещество № 1 вызывает депрессию ЦНС, но это может и не вызвать смерть, тогда смерть наступает из-за аккумуляции метаболитов в печени и легких. Для всех веществ, легко преодолевающих ГЭБ, характерно, что максимум неспецифической депрессии ЦНС соответствует пику концентрации токсикантов в крови [7]. Все это подтверждает правомерность гипотезы о базальной токсичности.

Интересны также и сравнительные данные по возможности предсказания острой токсичности для человека химических соединений по их воздействию *in vitro* на овальбумин (CE_{10} и CE_{50}), на

Таблица 3

Корреляционная связь (R^2 , линейная регрессия) между CI_{50} культур клеток.

Ингибирование культур клеток (среднее значение CI_{50} в lg M для N методов)*	Клетки человека (N=10, T=24 ч.)			Клетки млекопитающих (N=4-7, T=24 ч.)		
	R^2	n	a	R^2	n	a
Клетки млекопитающих (n = 7, T = 24 ч)	^A 0,95	40	1,09	-	-	-
	^B 0,95	34	1,08	-	-	-
	^B 0,95	25	1,02	-	-	-
Клетки рыб (n = 3, T = 48 ч)	^A 0,92	37	0,94	0,93	37	1,03
	^B 0,92	31	0,95	0,93	31	1,03
	^B 0,91	22	0,99	0,91	22	1,01

Примечание. * – числовые данные взяты из [4, 5]. T – продолжительность опыта в часах. n – число точек (вещества, для которых получены значения CE по денатурации овальбумина). a – коэффициент регрессии. ^A, ^B – строки для веществ, для которых получены данные по денатурации овальбумина CE_{10} (40 точек) и CE_{50} (34 точек), соответственно. ^B – строка для веществ, свободно проходящих гематоэнцефалический барьер. Для культур клеток рыб отсутствуют данные по веществам № 22, 24 и 47 [5].

Корреляционная связь (R^2 , линейная регрессия) показателей токсичности для человека с показателями токсичности для других систем

Показатели токсичности для человека*	Денатурация овальбумина				Ингибирование культур клеток (среднее значение CI_{50} в $lg M$ для n методов)*						Токсичность для грызунов (DL_{50} в $lg M/кг$)*			
	CE_{10} ($lg M$) T = 2 ч		CE_{50} ($lg M$) T = 5 ч		человек n = 10 T = 24		млекопитающие n = 4-7 T = 24		рыбы n = 3 T = 48		мыши		крысы	
	R^2	n	R^2	n	R^2	n	R^2	n	R^2	n	R^2	n	R^2	n
Острая летальная оральная доза DL_{100} ($lg M/кг$)	^A 0,45	40	0,43	34	0,57	40	0,53	40	0,56	37	0,58	40	0,59	40
	^B 0,58	25	0,50	23	0,55	25	0,56	25	0,53	22	0,61	25	0,75	25
Летальная концентрация в крови по клиническим данным ($lg M$)	^A 0,46	40	0,45	34	0,68	40	0,60	40	0,57	37	0,49	40	0,47	40
	^B 0,69	25	0,64	23	0,74	25	0,70	25	0,71	22	0,63	25	0,71	25
Летальная концентрация в крови по судебным данным ($lg M$)	^A 0,50	40	0,45	34	0,70	40	0,62	40	0,59	37	0,53	40	0,48	40
	^B 0,74	25	0,70	23	0,81	25	0,74	25	0,74	22	0,65	25	0,72	25
Пиковая концентрация в крови для кривой CL_{50} ($lg M$) ⁰	^A 0,51	40	0,48	34	0,75	40	0,65	40	0,62	37	0,44	40	0,39	40
	^B 0,79	25	0,74	23	0,73	34	0,63	34	0,62	31	0,45	34	0,40	34
					0,90	25	0,84	25	0,84	22	0,60	25	0,71	25

Примечание. * – Числовые данные из [4-7]. ⁰ – Получена экстраполяционными вычислениями на основе экспериментальных данных для DL_{100} [6]. T – продолжительность опыта в часах. n – число точек (веществ). ^A – строка: для веществ, для которых определены величины CE_{10} овальбумина (n = 40); под ней строка для веществ, для которых определены величины CE_{50} овальбумина (n = 34). ^B – строка для веществ, свободно проходящих гематоэнцефалический барьер. Для культур клеток рыб отсутствуют данные для веществ № 22, 24 и 47 [5].

культуры клеток человека и животных (IC_{50}), а также по острой оральной токсичности для грызунов (DL_{50}) (*in vivo*). Для этого нами были вычислены значения R^2 и коэффициенты линейной регрессии для соответствующих показателей (табл. 4). Кроме наших экспериментальных данных использовались числовые данные из итоговых материалов МЕИС [4-6]. Рассмотрим эти результаты отдельно по каждому показателю.

1. Острая летальная оральная доза – DL_{100} . Этот показатель примерно одинаково предсказывается культурами клеток человека и животных и DL_{50} грызунов. CE_{10} и CE_{50} овальбумина предсказывают хуже. Для веществ же, свободно проходящих через ГЭБ, этот показатель несколько лучше предсказывает острая токсичность для грызунов, в то время как все остальные показатели дают примерно одинаковые результаты.

2. Летальная концентрация в крови человека по клиническим данным. Лучше предсказывается культурами клеток человека и несколько хуже культурами клеток животных. Хуже, но примерно одинаково предсказывают CE_{10} и CE_{50} овальбумина и DL_{50} грызунов. Это имеет место и для веществ, свободно проходящих ГЭБ.

3. Летальная концентрация в крови по судебным данным. Картина примерно такая же, как и для предыдущего показателя.

4. Пиковая концентрация токсикантов в крови для кривой CL_{50} (получена экстраполяционным расчетным путем [6]). Существенно лучше предсказывается культурами клеток человека и несколько хуже культурами клеток животных. Затем следует воздействие на овальбумин. Хуже всего пиковую концентрацию предсказывает DL_{50} грызунов. Аналогичное распределение наблюдается и для веществ, свободно проходящих ГЭБ.

Все показатели острой токсичности для человека значительно лучше предсказываются для веществ, свободно проходящих ГЭБ (табл. 4). Особенно это выражено для последнего показателя острой токсичности – пиковой концентрации в крови. Изменения R^2 таковы: 0,51–0,79 (CE_{10} овальбумина); 0,48–0,74 (CE_{50} овальбумина); 0,73–0,91 (клетки человека); 0,63–0,84 (клетки млекопитающих); 0,62–0,84 (клетки рыб); 0,44–0,60 (DL_{50} мышей) и 0,39–0,71 (DL_{50} крыс). На рис. 2 (А, Б) графически представлена корреляционная связь между пиковой летальной концентрацией и величинами CI_{50} культур клеток человека: А – для веществ, свободно проходящих ГЭБ; Б – для веществ, плохо проходящих ГЭБ; R^2 для А равен 0,91; для Б – 0,62. Еще более резкие различия для тех же веществ наблюдаются для корреляционной связи с CE_{10} и CE_{50}

овальбумина (рис. 2 В, Г): для А $R^2 = 0,79$; для Б — 0,07, т.е. для веществ, плохо проходящих ГЭБ, корреляция отсутствует. На основании этого можно предположить, что многие вещества, свободно проходящие ГЭБ, имеют физико-химические особенности, способствующие неспецифическому воздействию на разнообразные белки внеклеточной среды и клеток, в то время как среди веществ, плохо проходящих ГЭБ, многие обладают более специфическими свойствами.

Для большинства веществ (№ 2, 16, 20, 26, 27, 28, 30, 31, 37, 38, 39, 40 и 43), плохо проходящих ГЭБ, характерно отсутствие неспецифического действия на ЦНС в момент пика их концентрации в крови. Вместе с тем, два вещества (№ 14 и 46) все же вызывают быструю депрессию ЦНС, но косвенным путем — через кальциевое истощение. Шесть веществ (№ 14, 31, 37, 40, 43 и 46) действуют на клеточные функции различных органов, кроме ЦНС. Вещество № 37 относят к блокаторам нейромышечной передачи, № 40 и 43 вызывают нарушение сердечной проводимости и сократимости, № 31 действует через 36–48 ч, нарушая работу ферментов печени. Для всех шести характерны гистопатологические изменения в органах. Вторая группа включает 9 веществ (№ 2, 16, 26–28, 30, 38 и 39). Они действуют медленно (через двое и более суток) на паренхимные органы (кроме ЦНС), часто вызывая гистопатологические нарушения в клетках. Все это подтверждает высказанное предположение о различиях токсических свойств химических соединений, легко и плохо проходящих через ГЭБ.

Заключение. Используемая в данной статье модель поддерживает гипотезу, высказанную Б.Экволлом, о базальной токсичности, как часто наблюдаемом механизме токсического действия разнообразных химических соединений. Кроме того, наше исследование указывает на один из возможных путей создания простых альтернативных методов для замены острых экспериментов на животных в токсикологических исследованиях — методов, в основу которых должна быть положена оценка нарушений функций значимых для организма белков под воздействием токсикантов. Наша аналогичная работа, проведенная на ацетилхолинэстеразе, свидетельствует в пользу этого.

Список литературы

1. *Bondesson I., Ekwall B., Hellberg S. et al. MEIC: a new international multicenter project to evaluate the relevance to human toxicity of in vitro cytotoxicity tests // Cell Biology and Toxicology, 1989. — V. 5. — P. 331-347.*
2. *Clemmedson C., McFarlsne-Abdulla E., Anderson M. et al. MEIC evaluation of acute systemic toxicity. Part I. Methodology of 68 in vitro toxicity assays used to*

test the first 30 reference chemicals // ATLA, 1996. — V. 24. — Suppl. 1. — P. 251-272.

3. *Clemmedson C., McFarlsne-Abdulla E., Anderson M. et al. MEIC evaluation of acute systemic toxicity. Part II. In vitro results from 68 toxicity assays used to test the first 30 reference chemicals and comparative cytotoxicity analysis // ATLA, 1996. — V. 24. — Suppl. 1. — P. 273-311.*

4. *Clemmedson C., Barile F.A., Ekwall B. et al. MEIC evaluation of acute systemic toxicity. Part III. In vitro results from 16 additional methods used to test the first 30 reference chemicals and comparative cytotoxicity analysis // ATLA, 1998. — V. 26. — Suppl. 1. — P. 93-129.*

5. *Clemmedson C., Andersson M., Aoki Y., et al. MEIC evaluation of acute systemic toxicity. Part IV. In vitro results from 67 toxicity assays used to test reference chemicals 31-50 and comparative cytotoxicity analysis // ATLA, 1998. — V. 26. — Suppl. 1. — P. 131-183.*

6. *Ekwall B., Clemmedson C., Crafoord B. et al. MEIC evaluation of acute systemic toxicity. Part V. Rodent and human toxicity data for the 50 reference chemicals // ATLA, 1998. — V. 26. — Suppl. 2. — P. 571-616.*

7. *Ekwall B., Barile F.A., Castano A. et al. MEIC evaluation of acute systemic toxicity. Part VI. The prediction of human toxicity by rodent LD50 values and results from 61 in vitro methods // ATLA, 1998. — V. 26. — Suppl. 2. — P. 617-658*

8. *Clemmedson C., Barile F.A., Chesne C. et al. MEIC evaluation of acute systemic toxicity. Part VII. Prediction of human toxicity by results from testing of first 30 reference chemicals with 27 further in vitro methods // ATLA, 2000. — V. 28. — Suppl. 1. — P. 161-200.*

9. *Ekwall B., Ekwall B., Sjostrom M. MEIC evaluation of acute systemic toxicity. Part VIII. Multivariate partial least squares evaluation, including the selection of a battery of cell line tests with a good prediction of human acute lethal peak blood concentrations for 50 chemicals // ATLA, 2000. — V. 28. — Suppl. 1. — P. 201-234.*

10. *Лукьянов А.С., Семина Т.К., Королев А.М. Конформационные перестройки в белковых системах как показатель токсичности химических соединений // Тезисы докладов 1-го съезда токсикологов России. — М., 1998. — С. 293.*

11. *Ekwall, B. Correlation between cytotoxicity in vitro and LD50 values // Acta Pharmacologica et Toxicologica, 1983. — V. 52. — Suppl. II. — P. 80-99.*

12. *Ekwall B. The basal cytotoxicity concept. Alternative Methods in Toxicology and the Life Sciences. The World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences: Education, Research, Testing (ed. A.M. Goldberg & L.F.M. van Zutphen). — New York: Mary Ann Liebert, 1994. — V II. — P. 721-725.*

Материал поступил в редакцию 30.03.05.

A.S.Lukyanov

CONFORMATION CHANGES IN OVALBUMIN AS INDICATOR OF ACUTE TOXICITY OF CHEMICALS

M.V.Lomonosov Moscow State University

Experimental data are analyzed about the exposure of in vitro ovalbumin to chemical compounds used in toxicological studies under an international programme MEIC (Multicentre evaluation of in vitro cytotoxicity). Ovalbumin exposure is compared to acute toxicity of compounds to humans and animals and different cell cultures. The outcome of the work confirms the hypothesis previously formulated by B.Ekwall that toxic effect of most compounds on the organism cells is determined by non-specific binding of extracellular and intracellular proteins, as well as prospectiveness of using similar tests for substituting experiments on animals in toxicology.

УДК 612.438.014.2.015.3.014.46

Э.Б.Мирзоев¹, В.О.Кобялко¹, О.А.Губина¹, А.И.Валейчик¹, Ю.Г.Верховский²**ИНТЕНСИВНОСТЬ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО НАКОПЛЕНИЯ КАДМИЯ И РЕПЛИКАТИВНОГО СИНТЕЗА ДНК В ТИМОЦИТАХ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПОСТУПЛЕНИИ МЕТАЛЛА С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ**¹ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной радиологии и агроэкологии РАСХН²Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск

При хроническом поступлении нитрата кадмия в организм крыс с питьевой водой в концентрациях 0,05 и 0,1 мг/л в течение 90 суток отмечается повышение его содержания в тимоцитах. Показана модификация активности репликативного синтеза ДНК в тимоцитах в зависимости от длительности поступления металла в организм.

Ключевые слова: тимоциты, кадмий, репликативный синтез ДНК.

Введение. При техногенном загрязнении окружающей среды тяжелыми металлами, в частности кадмием, наблюдается хроническое поступление металла с пищей и водой в организм млекопитающих [1, 2]. На всасывание кадмия в желудочно-кишечном тракте животных влияют возраст, пол, лактация, состав рациона. Кроме того, некоторые поливалентные катионы (Ca, Zn, La) подавляют абсорбцию кадмия путем изменения способности последнего прикрепляться к мембране энтероцитов. В целом (исключая период новорожденности), из желудочно-кишечного тракта всасывается порядка 1-5% поступившего металла [3]. Кадмий в организме депонируется в тканях печени, почек, селезенки и вызывает морфологические изменения клеток органов. Более того, он негативно воздействует на структурно-функциональное состояние ДНК [4, 5], что в конечном итоге приводит к гибели клетки. Целью исследования стала оценка интенсивности внутриклеточного накопления ионов кадмия и репликативного синтеза ДНК в тимоцитах при хроническом поступлении металла в организм крыс с питьевой водой.

Материал и методы исследований. В экспериментах использовали 36 крыс линии Вистар с массой тела 220±20 г. Животных содержали на стандартном пищевом рационе вместо питье-

вой воды давали раствор нитрата кадмия. Концентрация кадмия составляла 0,05 и 0,1 мг/л, что соответствовало 50 и 100 ПДК в питьевой воде (ГОСТ 2874-82).

На 30, 60 и 90-е сутки исследования у крыс под наркозом (нембутал) извлекали тимус и протирали через капроновую сетку с использованием среды, содержащей 140 мМ NaCl, 5 мМ KCl, 1 мМ MgCl₂, 5 мМ HEPES, 1 мМ глюкозы и 1 мМ Na₂HPO₄ (рН 7,4). Полученную суспензию клеток осаждали центрифугированием при 1500 г в течение 10 мин и ресуспендировали в небольшом объеме (1-3 мл) той же среды. Количество тимоцитов определяли в камере Горяева.

Внутриклеточное накопление ионов кадмия в тимоцитах определяли по скорости входа и выхода изотопа ¹⁰⁹Cd²⁺. Скорость входа является результирующей потоков входа и АТФ-зависимого удаления ионов ¹⁰⁹Cd²⁺ из клеток и поэтому характеризует внутриклеточное содержание кадмия. В то же время скорость выхода фактически является критерием АТФ-зависимого удаления изотопа из клеток.

Тимоциты (200 мкл) помещали в 800 мкл среды А (140 мМ NaCl, 5 мМ KCl, 1 мМ MgCl₂, 5 мМ HEPES, 1 мМ глюкозы, рН 7,4) (концентрация тимоцитов 5·10⁶ /мл) с 148 кБк ¹⁰⁹CdCl₂ и инкубировали в течение 45 мин при 37°С. После до-

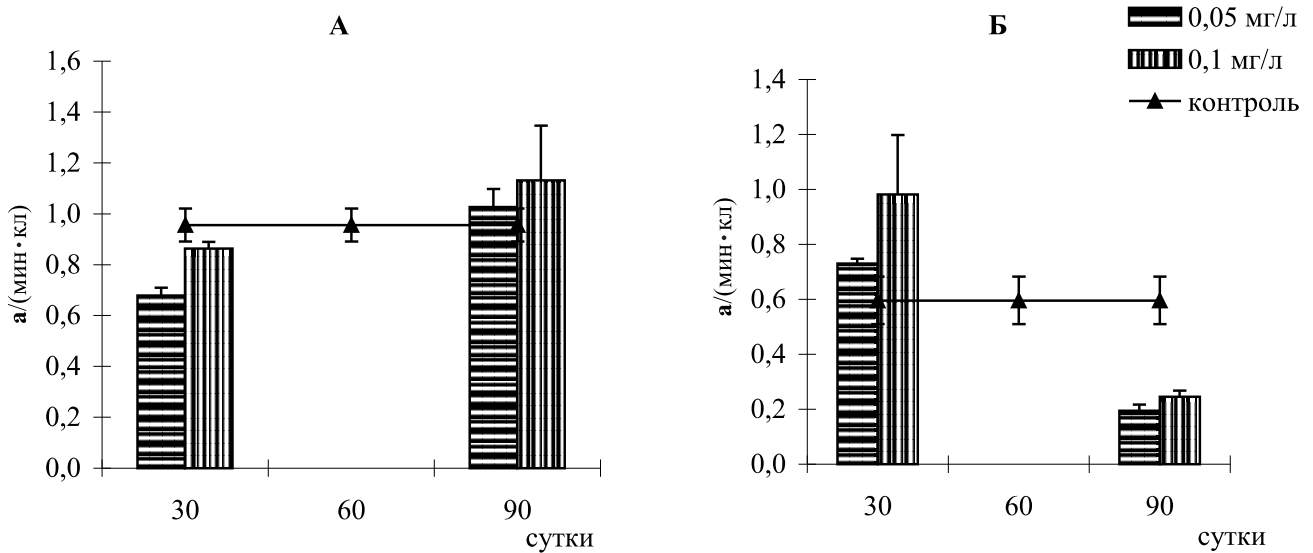


Рис. 1. Скорость входа А и выхода Б ¹⁰⁹Cd²⁺ в тимоцитах при хроническом поступлении кадмия в организм крыс с питьевой водой (а – радиоактивность (имп/мин · 10⁻³))

бавления метки для определения скорости входа – через 0, 15 и 45 мин отбирали по 200 мкл суспензии, промывали 3 раза (осаждение клеток на центрифуге «Весман», 5 мин, 1500 g) в 1 мл среды А (140 мМ NaCl, 5 мМ KCl, 5 мМ HEPES, pH 7,4), с 0,1 мМ ЭДТА и в полученном осадке определяли ÷-активность. Оставшуюся часть суспензии тимоцитов (400 мкл) использовали для оценки скорости выхода изотопа. Для этого клетки отмывали 3 раза в среде В с 0,1 мМ ЭДТА. К осадку добавляли 300 мкл среды А и полученную суспензию клеток делили на 2 части (по 200 мкл). Одну часть инкубировали в течение 30 мин при 37°С, а вторую осаждали и отбирали супернатант (нулевая точка). Через 30 мин процедуру повторяли. Активность ¹⁰⁹Cd²⁺ в образцах определяли на ÷-счетчике. Скорость входа и выхода кадмия рассчитывали по формуле:

$V = (A_t - A_0)/t$ (срм/мин), где: A_t – ÷-активность образца через определенное время инкубации, A_0 – ÷-активность нулевой точки; t – время инкубации.

Репликативный синтез дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) в тимоцитах оценивали по включению [³H-тимидина] [6].

Экспериментальный материал был обработан методом вариационной статистики. Различия значений считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Хроническое поступление кадмия с питьевой водой в организм крыс в течение всего периода исследования приводило к изменению его внутриклеточного содержания. На 30-е сутки исследования в тимоцитах крыс отмечали снижение скорости входа ¹⁰⁹Cd (рис. 1). Наиболее выраженные изменения отмечали при 0,05 мг/л кадмия в питьевой воде.

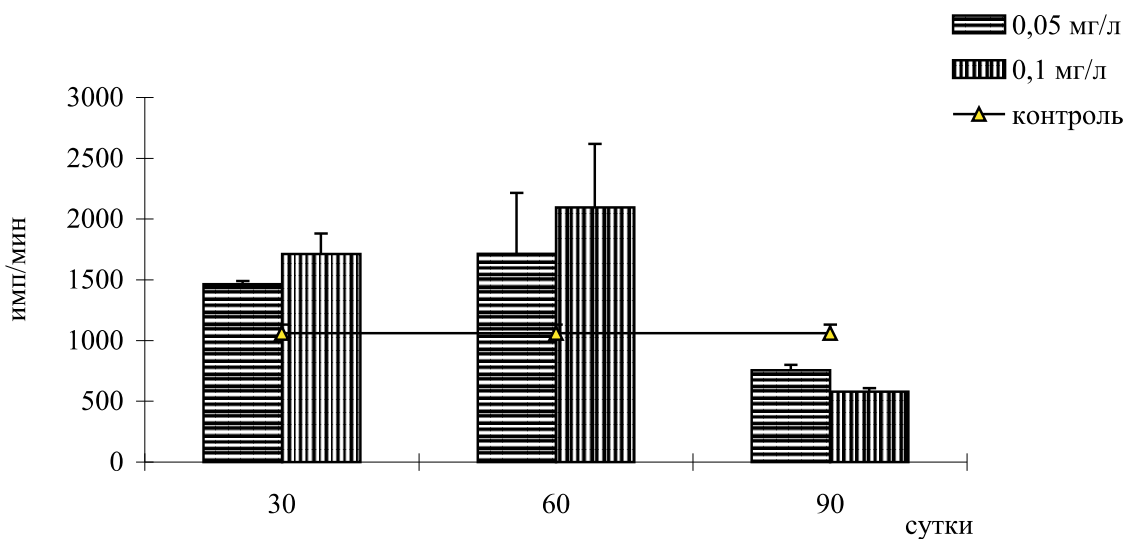


Рис. 2. Репликативный синтез ДНК в тимоцитах при хроническом поступлении кадмия в организм крыс с питьевой водой.

На 90-е сутки исследования значения показателя были повышены относительно контрольных значений ($p > 0,05$). Следует отметить, что скорость входа ^{109}Cd в тимоциты зависит от концентрации кадмия в питьевой воде и длительности его поступления в организм. Более того, снижение внутриклеточной концентрации металла на 30-е и повышение на 90-е сутки исследования можно объяснить нарушением проницаемости плазматической мембраны и/или модификацией активности ион-транспортующих АТФаз. Экспериментальное подтверждение последнего предположения нами получено при определении скорости выхода изотопов из клеток.

Так, на 30-е сутки исследования регистрировали повышение скорости выхода изотопа, а на 90-е сутки – снижение. Учитывая тот факт, что удаление ионов кадмия из клеток является АТФ-зависимым, то повышение скорости выхода изотопа на 30-е сутки исследования свидетельствует об активации ион-транспортующих АТФаз, а снижение на 90-е сутки – об истощении энергетических ресурсов клетки.

Следовательно, при хроническом поступлении кадмия в организм крыс с питьевой водой в концентрациях 0,05 и 0,1 мг/л отмечается повышение его содержания в тимоцитах. Вероятно, в начальные сроки исследования низкий уровень концентрации металла в организме крыс не вызывает нарушения проницаемости плазматической мембраны тимоцитов для ионов кадмия и его поступление в клетки компенсируется АТФ-зависимыми механизмами удаления. В дальнейшем повышение концентрации кадмия в организме крыс сопровождается нарушением проницаемости плазматической мембраны и истощением энергетических запасов клетки.

По мере накопления в клетках ионы кадмия могут оказывать негативное влияние на структурно-функциональное состояние молекулы ДНК. Оценка репликативного синтеза ДНК в тимоцитах обнаружила повышение интенсивности репарационных процессов в течение первых 60 суток и ингибирование – на 90-е сутки исследования (рис. 2). Очевидно, что интенсивность репарационных процессов зависит от внутриклеточной концентрации кадмия. Причем, при низких концентрациях металла процесс репарации активируется, а при высоких, напротив, – ингибируется. Это сви-

детельствует о том, что ионы кадмия по мере увеличения его концентрации в клетке оказывают повреждающее действие на молекулу ДНК.

Выводы. 1. При хроническом поступлении нитрата кадмия в организм крыс с питьевой водой в течение 90 суток отмечается повышение его содержания в тимоцитах, которое обусловлено концентрацией металла и длительностью его поступления в организм, модификацией проницаемости плазматической мембраны и активности ион – транспортующих АТФаз.

2. Оценка интенсивности репликативного синтеза ДНК выявила активацию процесса репарации в начальные сроки и, напротив, – ингибирование на 90 суток. Предполагается, что модификация активности репликативного синтеза ДНК зависит от внутриклеточной концентрации металла.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и администрации Калужской области (проект №02-04-96026 и № 04-04-97217).

Список литературы

1. Ковальчук Л.А., Сатонкина О.А., Тарханова А.Э. Тяжелые металлы в окружающей среде Среднего Урала и их влияние на организм // *Экология*, 2002. – № 5. – С. 358-361.
2. Пурмаль А.П. Антропогенная токсикация планеты. Часть I. // *Соросовский образовательный журнал*, 1998. – № 9. – С. 39-45.
3. Некоторые вопросы токсичности ионов металлов. Пер. с англ. / Под ред. Х. Зигеля, А. Зигель. – М.: Мир, 1993. – 368 с.
4. Привезенцев К.В., Сирота Н.П., Газиев А.И. Влияние сочетанного воздействия Cd и \div -радиации на повреждение и репарацию ДНК в лимфоидных тканях мышей // *Радиационная биология. Радиоэкология*, 1996. – Т. 36. – Вып. 2. – С. 234-240.
5. Hartwig A. Carcinogenicity of metal compounds: possible role of DNA repair inhibition // *Toxicology Letters*, 1998. – V. 102-103. – P. 235-239.
6. Шевченко А.С., Симонова З.А., Шевченко Т.С. Изменение ДНК-синтезирующей активности в лимфоцитах периферической крови облученных животных // *Радиобиология*, 1991. – Т. 31. – Вып. 1. – С. 137-139.

Материал поступил в редакцию 22.06.05.

E.B.Mirzoyev¹, V.O.Kobyalko¹, O.A.Gubina¹, A.I.Valeychik¹, Yu.G.Verkhovskiy²

INTENSITY OF INTRACELLULAR ACCUMULATION OF CADMIUM AND REPLICATIVE SYNTHESIS OF DNA IN RAT THYMOCYTES AT CHRONIC UPTAKE OF THE METAL WITH DRINKING WATER

¹*State-owned Research Institute of Agricultural Radiology and Agricultural Ecology, Russian Academy of Agricultural Sciences*

²*Medical Radiological Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Obninsk*

At chronic entry of cadmium nitrate at concentrations of 0.05 and 0.1 mg/l for 90 days into the rat organism together with drinking water, an increase of its concentration in thymocytes is observed. It is shown a modified activity of DNA replicative synthesis in thymocytes depending on the length of the uptake of the metal by the organism.

ЮБИЛЕЙНЫЕ ДАТЫ

УДК 615.9 (095 Шафран)

ЛЕОНИД МОИСЕЕВИЧ ШАФРАН (к 70-летию со дня рождения)

18 февраля 2006 г. исполнилось 70 лет со дня рождения видного ученого-токсиколога и гигиениста, доктора медицинских наук, профессора **Леонида Моисеевича Шафрана**. Он прошел славный трудовой и жизненный путь от курсанта Военно-морского медицинского училища в Одессе, офицера военно-морского флота, студента Одесского медицинского института им. Н.И.Пирогова и Одесского Государственного университета им. И.И.Мечникова до заведующего лабораторией, отделом, заместителя директора Всесоюзного научно-исследовательского института гигиены водного транспорта, ныне Украинского НИИ медицины транспорта.

Имя Л.М.Шафрана неразрывно связано с историей развития санитарно-эпидемиологической службы на транспорте. После выхода в запас при сокращении Вооруженных сил он начал работать в Бассейновой санэпидстанции Черноморско-Азовского водздравотдела в Одессе в должности помощника эпидемиолога, врача-эпидемиолога в санитарно-карантинном отделе порта (1959-1965 гг.). Он стоял у истоков создания токсикологических лабораторий в системе санэпиднадзора, создал и возглавил Бассейновую токсикологическую лабораторию Черноморско-Азовского водздравотдела, где в полной мере раскрылись большие творческие и организаторские способности молодого специалиста и будущего ученого. Об этом свидетельствует тематика проводимых научно-практических работ по обоснованию и созданию токсиколого-гигиенических принципов, критериев и методов регламентации опасных грузов, применения полимерных материалов в судостроении, судоремонте, в объектах оборонно-космической отрасли, исследованию механизмов адаптации моряка в различных условиях плавания при доминирующем действии химических производственно-бытовых факторов на организм. Эти работы имели не только важное научно-теоретическое, но и большое народнохозяйственное значение. Оба направления присутствуют в большинстве научно-исследовательских работ, выполняемых под руководством и при непосредственном активном участии Л.М.Шафрана по сей день. Уже в то время из стен лаборатории вышло 13 кандида-



тов наук. В 1968 г. и сам Л.М.Шафран успешно защитил в специализированном совете Академии медицинских наук СССР в Москве кандидатскую диссертацию.

В 1978 г. после образования в Одессе филиала Научно-исследовательского института гигиены водного транспорта он переходит в его стены со своими сотрудниками, где организует отдел токсикологии. Так создавалась Одесская школа токсикологии на транспорте, из которой вышло более 20 кандидатов и 5 докторов наук. В 1982 г. ее основатель Л.М.Шафран успешно защитил докторскую диссертацию, а в 1985 г. получил звание профессора.

Им опубликовано более 450 печатных научных работ, среди которых 12 монографий, руководств и справочных изданий (в соавторстве). Среди них, в частности: «Адаптация человека в экстремальных условиях среды» (Рига: Звайгзне, 1980), «Справочник по гигиене и санитарии на судах» (Л.: Судостроение, 1984), «Справочник по гигиене полимерных материалов» (К.: Здоров'я, 1984), Handbook of Nautical Medicine, (Springer-Verlag, 1984), «Гигиена обитаемости морских судов» (К.: Здоров'я, 1989), «Гигиенические основы очистки и обеззараживания судовых сточных вод» (К.: Здоров'я, 1991), раздел «Среда обитания человека XX века» в 1-м томе Международной энциклопедии «Человек в измерениях XX века» (М. – К-д, 2001), раздел «Тиоловые яды» монографии «Общая токсикология» (М.: Медицина, 2002), раздел «Комплексная система психофизиологического профессионального отбора судовых операторов – важный шаг в познании человека XX века» в 6-м томе Международной энциклопедии «Человек в измерениях XX века» (М. – К-д, 2004) и др., а также 19 авторских свидетельств, украинских и российских патентов.

Энциклопедические знания и высокий творческий потенциал, активная жизненная позиция способствовали развитию и реализации многоплановых научных интересов Л.М.Шафрана, среди которых биохимическая, профилактическая и теоретическая токсикология, гигиена транспорта, авиационная, космическая и морская медицина, адаптация человека в экстремальных условиях производственной и окру-

жающей среды, экотоксикология. Потому, не случайно, такие авторитетные общественные организации, как Международная академия безопасности жизнедеятельности, Международная академия безопасности человека в авиакосмических системах, Украинская академия судостроения избрали его своим действительным членом.

Л.М.Шафран уделяет много времени и сил выполнению своих многочисленных общественных обязанностей и нагрузок: в течение ряда лет (1967-1980 гг.) он был экспертом-токсикологом Межправительственной морской организации при ООН, членом Консультативного совета ВОЗ по охране здоровья моряков (1970-1982 гг.), а в 2000 г. избран членом научного совета Международной ассоциации экотоксикологов (SECOTOX). Более 10 лет он является председателем комиссии гигиены и токсикологии полимеров Комитета по вопросам гигиенического регламентирования Минздрава Украины, членом проблемных комиссий АМН и Минздрава Украины (гигиены труда и гигиены и токсикологии пестицидов и полимерных материалов), членом специализированного ученого совета при Институте медицины труда АМН Украины, членом правлений научных обществ гигиенистов и токсикологов Украины и председателем Одесского отделения научного общества токсикологов; научный редактор журнала «Актуальные проблемы транспортной медицины», член редакционных советов журналов «Медицина тру-

да», «Современные проблемы токсикологии», «Медицина транспорта Украины» и «Причерноморский экологический бюллетень», периодического научного сборника «Гигиена населенных мест».

Многогранная научная, общественная деятельность Л.М.Шафрана отмечена многими наградами, как своей страны, так и международной общественности. Он награжден орденом «Знак почета» (1985), тремя медалями СССР (1958, 1970, 1986), значком «Отличнику здравоохранения СССР» (1976), серебряной медалью им. Бернарда Нохта (Германия, 1988) и Почетным дипломом Института морской и тропической медицины (Польша, 1989). 5 медалями ВДНХ СССР (1973, 1976, 1979, 1981, 1985); Почетными грамотами Министерства здравоохранения Украины (2001, 2005), грамотой Министерства чрезвычайных ситуаций Украины (2003), грамотой Госнадзорхрантруда Украины (2003).

Свой юбилей проф. Л.М.Шафран встречает за рабочим столом в лаборатории в кругу учеников, коллег и единомышленников, полный планов, сил и энергии. Желаем Леониду Моисеевичу доброго здоровья и новых успехов на ниве токсикологии.

Правление Российской общественной организации токсикологов
Редколлегия журнала «Токсикологический вестник»

Минздрав Украины
Институт экогигиены и токсикологии им. Л.И.Медведя
Украинское Общество Токсикологов
Университет Северной Каролины Чепел Хилл

Токсикологические проблемы безопасности
среды жизнедеятельности человека и безопасности
продуктов питания в Восточной и Центральной Европе
Май 2-5, 2006

Место проведения конференции

Институт экогигиены и токсикологии им. Л.И.Медведя, Киев, Украина

Приоритетные темы конференции: токсикологическая оценка влияния опасных факторов на среду жизнедеятельности человека; безопасность пищевых продуктов; влияние на здоровье человека.

Контактная информация

Институт экогигиены и токсикологии им. Л.И.Медведя
Георгий Проданчук: etox@carrier.kiev.ua или +380-44-451-6766

Университет Северной Каролины

Иван Русин, MD, PhD: lir@unc.edu или +1-919-843-2596



БЮЛЛЕТЕНЬ

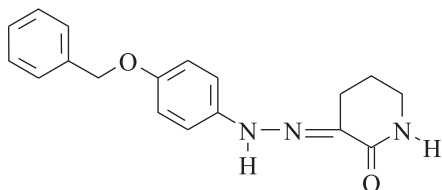
Российского регистра потенциально опасных химических и биологических веществ

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК

М.В.Бидевкина¹, М.И.Голубева²,
Л.И.Жолдакова³, Н.Г.Иванов¹, Г.И.Рожнов²,
И.А.Бобринева², Э.А.Федорова²,
О.В.Липочкина², Л.И.Крымова², Е.А.Тулская³
¹ГОУ ВПО «Российский государственный
медицинский университет федерального агентства
по здравоохранению и социальной развитию»
²ОАО «Всероссийский научный центр по
безопасности биологически активных веществ»
³ГУ НИИ экологии человека и гигиены окружающей
среды им. А.Н. Сысина РАМН

3[[-4-(Фенилметокси)фенил]-гидразон]
пиперидин-2,3-дион



Синонимы: 3-(*n*-бензилокси)фенилгидразон пиперидиндиона-2,3; «гидразон».

CAS: 101783-07-7. C₁₈H₁₉N₃O₂. М.м. 309.33. Кристаллический порошок рыжевато-коричневого (кирпичного) цвета. Не растворим в воде, плохо растворим в этиловом спирте, хорошо растворим в хлороформе. Является промежуточным продуктом производства серотонина.

При изучении влияния «гидразона» на органолептические свойства воды установлены пороговые концентрации: по влиянию на окраску – 2,07±0,15 мг/л, на мутность – 9,98±0,54 мг/л, по взвешенным веществам – на уровне 25 мг/л. В качестве пороговой концентрации «гидразона» по органолептическому признаку (ПК_{орг}) вредности принята величина 2 мг/л, лимитирующий показатель – окраска.

Изучение влияния «гидразона» на процесс самоочищения водоема проводилось по биохимическому потреблению кислорода в 5-суточных экспериментах (БПК₅). В испытанных концентрациях 8, 2 и 0,5 мг/л «гидразон» вызывал торможение процессов БПК. Концентрация 2 мг/л

принята в качестве пороговой по общесанитарному признаку вредности (ПК_{сан}).

DL₅₀ (в/ж, мг/кг) для мышей самок – 3594, для мышей самцов – 4600, для крыс самок – > 10000 (3-й класс опасности по классификации ГОСТ 12.1.007-76, умеренно опасное вещество). DL₅₀ (в/б, мг/кг, мыши) – 918 (4-й класс токсичности по классификации К.К.Сидорова, малотоксичное вещество).

Клиническая картина отравления выражена слабо: наступала вялость, малоподвижность животных. Гибель животных наступала на 4-6 сутки после внутрижелудочного введения и на 2-4 сутки после введения в брюшную полость.

Раздражающее действие «гидразона» на слизистые оболочки глаза и признаки кожно-резорбтивного действия не выявлены. Продукт обладает умеренным раздражающим действием на кожу и выраженным кумулятивным эффектом. С_{сум} (мыши, метод Lim et al., 24 дня, 5 раз в неделю) составил 2,36. Во время эксперимента подопытные животные были менее подвижны, чем контрольные, глазные щели прикрыты; после 12 введений до конца эксперимента отмечали нарастающую потерю массы тела.

При воздействии «гидразона» при повторном (5 раз в неделю в течение 4-х недель) внутрижелудочном введении крысам-самкам в дозах 25, 5, 1 и 0,2 мг/кг у животных измеряли массу тела, СПП, оценивали поведенческие реакции, измеряли диурез, в моче определяли содержание белка, мочевины и хлоридов, в сыворотке крови – активность АлАТ, АсАТ и содержание мочевины. После снятия фоновых значений показателей наблюдения проводили в 1 сутки, затем на 5, 10, 20 и 30-е сутки опыта. В конце эксперимента у животных измеряли коэффициенты масс внутренних органов.

В течение эксперимента видимых клинических признаков отравления у белых крыс не отмечалось. Наблюдали незначительное влияние «гидразона» в наибольшей дозе на функциональное состояние нервной системы – в конце эксперимента зарегистрировано повышение СПП и снижение вертикальной подвижности крыс в тесте «открытое по-

ле».

Нарушения функционального состояния печени под действием «гидразона» не наблюдали. Активность АлАТ и АсАТ в сыворотке крови не изменялась.

Воздействие «гидразона» в течение месяца в максимальной дозе вызывало изменения функционального состояния почек. Увеличивалось содержание в моче белка (опыт: $6,0 \pm 0,6$ мг/мл, контроль: $3,9 \pm 0,2$ мг/мл, $p > 0,05$), хлоридов (опыт: $104,1 \pm 7,2$ мМ, контроль: $31,5 \pm 10,7$ мМ, $p > 0,05$) и мочевины (опыт: $125,3 \pm 9,9$ мМ, контроль: $85,6 \pm 3,7$ мМ, $p > 0,05$). Содержание мочевины в крови не изменялось.

Пороговая доза «гидразона» в подостром эксперименте установлена на уровне 25 мг/кг по влиянию на функциональное состояние нервной системы и почек. На ее основании были рассчитаны максимально недействующая доза и максимально недействующая концентрация (МНК) «гидразона», которые составили соответственно 1,66 мг/кг и 33,2 мг/л.

Острое ингаляционное воздействие «гидразона» изучали на крысах самках массой тела 190-210 г в концентрациях $29,24 \pm 5,32$ и $104,04 \pm 13,47$ мг/м³.

Для оценки токсического действия «гидразона» использовали следующие физиологические тесты: ректальная температура, СПП, частота дыхания. Поведенческие реакции оценивали в тестах «открытое поле» и «норковый рефлекс». На 2-е сутки после ингаляции в периферической крови измеряли: концентрацию гемоглобина, количество лейкоцитов и эритроцитов.

При биохимическом обследовании животных использовали адекватные методы, выбранные с учетом возможного влияния вещества на функцию печени: в сыворотке крови определяли содержание глюкозы, холестерина, общего белка, активность АлАТ, АсАТ, щелочной фосфатазы и функцию почек: в плазме крови измеряли уровень мочевины, натрия, калия, кальция; определяли величину спонтанного суточного диуреза после водной нагрузки и уровень натрия, калия, кальция и мочевины в моче.

По окончании эксперимента животных забивали путем декапитации. При вскрытии оценивали макроскопическую картину и определяли относительную массу паренхиматозных органов — печень, почки, сердце, легкие, селезенка и эндокринных желез (надпочечники, щитовидная железа, тимус).

Наименьшая концентрация «гидразона» ($29,24$ мг/м³) была близка к недействующей. При воздействии вещества на этом уровне у подопытных крыс на первые сутки отмечено только снижение частоты дыхания (опыт: $82,50 \pm 3,54$ дых.

дых./мин, контроль: $97,50 \pm 3,54$ дых. дв./мин, $p > 0,01$). Остальные показатели были на уровне контроля.

Lim_{ac} «гидразона» (ингаляция, 4 ч, крысы) установлен на уровне $104,04$ мг/м³ по влиянию вещества на функцию почек. Зарегистрировано увеличение содержания мочевины в сыворотке крови (опыт: $6,78 \pm 0,28$ мМ/л, контроль: $5,59 \pm 0,22$ мМ/л, $p > 0,01$) и в моче (опыт: $410,0 \pm 26,0$ мМ/л, контроль: $315,3 \pm 21,3$ мМ/л, $p > 0,02$), а также снижение содержания калия в сыворотке крови (опыт: $6,63 \pm 0,07$ мМ/л, контроль: $7,08 \pm 0,06$ мМ/л, $p > 0,01$).

В установленном порядке утвержден ОБУВ аэрозоля 3[[-4-(фенилметокси)фенил]гидразон]пиперидин-2,3-диона («гидразона») для воздуха рабочей зоны 2 мг/м³ (Доп. № 1 к ГН 2.2.5.1314-03). Метод определения в воздухе — спектрофотометрический при длине волны 365 нм. Нижний предел измерения 0,5 мг/м³.

Для атмосферного воздуха населенных мест утвержден ОБУВ «гидразона» 0,02 мг/м³ (Доп. № 1 к ГН 2.1.6.1339-03).

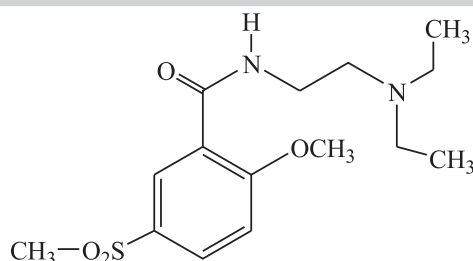
На основании установленных в опытах пороговых концентрации ($PK_{орг} = 2$ мг/л (окраска), $PK_{сан} = 2$ мг/л, МНК = 33,2 мг/л) в качестве ОДУ «гидразона» в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования рекомендована величина 2 мг/л по органолептическому показателю вредности (лимитирующий признак — окраска), класс опасности 3.

Материал поступил в редакцию 31.01.06.

УДК 615.214

Р.А.Калёкин*, С.А.Кулешова, Д.С.Лазарян
Пятигорская государственная фармацевтическая академия, Пятигорск

ТИАПРИД N-[2-(N,N-Диэтиламино)этил]-2-метокси-5-(метилсульфонил)бензамид.



Синонимы: *Delpral, Doparid, Mesulpridum, Tiaprizal, Tiapridal, Tiapridex, Tridal.*

$C_{15}H_{24}N_2O_4S$. CAS: 51012-32-9. Белый или белый с желтоватым оттенком кристаллический по-

* Фрагмент диссертационной работы

рошок. Легко растворим в воде, мало – в спирте.

Определение DL_{50} и DL_{100} проводили на белых мышах массой 18-22 г по методу Кербера [2]. Водный раствор субстанции тиаприда (100 мг/мл) вводили перорально однократно в дозах от 1750 до 3000 мг/кг с интервалом в 250 мг/кг. Продолжительность наблюдения за животными составила 2 недели. В первый день после введения мыши находились под непрерывным наблюдением.

Таблица

Регистрация картины интоксикации тиапридом

Показатель	Картина интоксикации
Общее состояние	-4
Особенность поведения	-3
Интенсивность двигательной активности	-3
Наличие судорог	+2
Характер судорог	тетанические
Координация движений	-2
Тонус скелетных мышц	сниженный
Реакция на тактильные раздражители	-3
Реакция на болевые раздражители	-2
Реакция на звуковые раздражители	-4
Реакция на световые раздражители	-4
Частота дыхательных движений	160 (у контроля 240)
Глубина дыхательных движений	+3 (глубокие)
Состояние волосяного покрова	+1
Состояние кожного покрова	0
Окраска слизистых оболочек	0
Размер зрачка	суженные
Положение хвоста	поджатое, потом прямое (без движения хвостом)
Количество фекальных масс	-3
Консистенция фекальных масс	-3
Частота мочеиспускания	-3
Окраска мочи	0
Потребление корма	-4
Потребление воды	-4
Изменение массы тела	0

Для уточнения DL_{100} дополнительно вводили животным дозы препарата в интервале от 2500 до 3000 мг/кг с разницей 100 мг/кг.

Перерасчет DL_{100} проводили с использованием методических указаний по оценке безопасности применения лекарственных средств в клинике, коэффициент пересчёта дозы (мг/кг) с мыши на человека составляет 11,8 [1].

Оценку общего состояния животных при введении тиаприда проводили с учётом изменения поведенческих реакций, нервно-мышечной возбудимости и некоторых вегетативных функций [1, 2].

Токсические эффекты регистрировали в течение 30 мин при введении больших доз тиаприда. Оценка токсического действия исследуемого вещества была произведена по 5-балльной системе (усиление – «+», торможение – «-»): отсутствие – 0, слабо выраженное – 1, умеренное – 2, значительное – 3, резкое – 4 (табл.).

После введения больших доз препарата животные отказывались от корма и питья, при почти полном отсутствии мочеиспускания и дефекации. Интоксикация характеризовалась резким ухудшением общего состояния со значительными изменениями в поведении. Двигательная активность при нарушении координации почти отсутствовала с наличием характерных тетанических судорог и последующим снижением тонуса скелетных мышц. Реакции на световые и звуковые стимулы отсутствовали, а реакции на тактильные и болевые были значительно снижены. Токсические дозы оказывали негативное влияние также на дыхательную функцию животных, т.е. дыхательные движения были реже, чем у контрольных мышей, но более глубокие.

DL_{50} тиаприда при пероральном введении мышам составила $2312,5 \pm 81,8$ мг/кг. По классификации ГОСТ 12.1.007-76 «ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности» тиаприд относится к III классу опасности (умеренно опасные вещества).

Почти во всех случаях гибель животных наступала в течение 40-80 мин. Было подтверждено, что 100%-ую гибель животных вызывает доза 3000 мг/кг. После перерасчета смертельная доза (DL_{100}) тиаприда для человека со средней массой 70 кг составляет 17,8 г, т.е. 254,2 мг/кг при пероральном применении.

Список литературы

1. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ* / Под ред. В.П.Фисенко, Е.В.Арзамасцева, Э.А.Бабаян и др. – М.: Ремедиум, 2000. – 398 с.

2. *Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии.* – М., 2000. – 352 с.

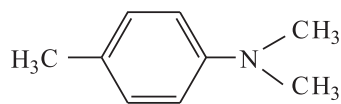
Материал поступил в редакцию 20.12.05.

УДК 547.552.1

А.В.Биткина, Л.А.Малькова, Е.В.Бубенкова,

И.А.Биткин

ОАО НИИ «Ярсинтез», Ярославль

N,N-Диметилпаратолуидин

Синонимы:

N,N,4-триметиланилин, ДМПТ. С₉Н₁₃Н.
М.м. 135,21. Про-

зрачная вязкая жидкость желтоватого цвета с резким специфическим запахом. $T_{\text{кип.}}$ 211°C, плотность 0,93 г/см³, в воде трудно растворима, хорошо смешивается с органическими растворителями и жирами. Применяется как ускоритель реакций полимеризации в органическом синтезе.

DL_{50} (в/ж, крысы-самцы) составляет 0,980 (0,676÷1,374) г/кг, III класс опасности по классификации ГОСТ 12.1.007-76. DL_{50} (в/ж, мыши-самцы) составляет 0,139 (0,095÷0,187) г/кг, II класс опасности по классификации ГОСТ 12.1.007-76. Коэффициент видовой чувствительности (крысы/мыши) составляет 7,05.

Клиническая картина острого отравления подопытных животных характеризовалась адинамией, пилоаррекцией, нарушением координации движений. У мышей, в отличие от крыс, наблюдали кратковременное двигательное возбуждение, кроме того, нарушение ритма дыхания и тремор тела при попытке передвижения. Гибель крыс наступала на вторые сутки, а мышей — в первые сутки после введения.

Ингаляционное воздействие ДМПТ испытывали на мышах в 2-часовых статических затравках. Были испытаны концентрации от 800 до 3200 мг/м³; более высоких концентраций в виду низкой летучести продукта создать не удалось. При воздействии ДМПТ в указанных концентрациях у подопытных животных развивалась выраженная интоксикация с признаками раздражения слизистых верхних дыхательных путей и нарушением функций внешнего дыхания. Действие обратимо: через сутки после окончания затравок состояние подопытных животных, как правило, нормализовалось. Все животные остались живы.

Продукт обладает выраженным кожно-резорбтивным действием: после 4-х часового погружения 2/3 хвоста мышей в нативный продукт,

50 и 25% раствор все подопытные животные погибли в течение суток, при этом видимых патологических изменений на коже хвоста не обнаружено.

Однократное нанесение ДМПТ на кожу морских свинок местных патологических изменений не вызывало; повторные аппликации привели к развитию поверхностного дерматита с крупнопластинчатым шелушением. Капельные пробы, проводимые после 10- и 20-кратный эпикутанной сенсibilизации, не дали положительной реакции.

После внесения 200 мг продукта в конъюнктивальную полость глаза кролика через 20 мин развивались блефароспазм и слезотечение с последующим конъюнктивитом, сохранявшимся в течение 2-3 суток.

Оценку кумулятивных свойств проводили путем ежедневного введения ДМПТ в виде масляной эмульсии в желудок крысам-самцам в дозе 1/10 DL_{50} в течение месяца. Гибели подопытных животных на протяжении всего эксперимента не наблюдали. Полученные результаты позволяют оценить ДМПТ как соединение со слабо выраженными кумулятивными свойствами ($C_{\text{cum}} > 2,5$).

При обследовании животных в подостром опыте обнаружены статистически достоверные изменения со стороны крови в виде эритропении и лейкоцитоза, а также тенденция к снижению содержания гемоглобина. В моче наблюдали достоверное увеличение содержания хлоридов и тенденцию к возрастанию содержания белка, что свидетельствует о возможном повреждении почечных канальцев. Определение СПП и массы тела не выявило достоверных различий у подопытных животных по сравнению с контрольными.

По характеру токсического действия, по величине токсических доз и концентраций ДМПТ очень близок к паратолуидину, производным которого он является. По аналогии с нормированным паратолуидином для паров диметилпаратолуидина рекомендована ПДК в воздухе рабочей зоны 1 мг/м³ со знаком «+» и отнесением продукта ко 2-му классу опасности.

Материал поступил в редакцию 06.02.06.

НОВЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТОКСИКОЛОГИИ И СМЕЖНЫМ ДИСЦИПЛИНАМ

Анализы: Полный справочник / Колоколов и др. — М.: Эксмо, 2005. — 768 с. 4000 экз.

Барсегянц Л.О. Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств: Кровь, выде-

ления, волосы: Учеб. пособие. — М.: Медицина, 2005. — 448 с. — (Учеб. литература для слушателей системы последиplomного образования). 1500 экз.

Громова Э.Г. **Справочник по лекарственным средствам с рецептурой.** – 5-е изд., перераб., доп. – СПб.: Фолиант, 2005. – 864 с. 3000 экз.

Заслуженный деятель науки РСФСР, профессор Николай Васильевич Лазарев (к 110-летию со дня рождения). – СПб.: Изд-во Теза, 2005. – 24 с. 100 экз.

Квеситадзе Г.И. и др. **Метаболизм антропогенных токсикантов в высших растениях.** – М.: Наука, 2005. – 199 с. 480 экз.

Организация ликвидации медико-санитарных последствий биологических, химических и радиационных террористических актов / Под ред. акад. РАМН, проф. Г.Г.Онищенко. – М.: ФГУ «ВЦМК «Защита», 2005. – 328 с. 300 экз.

Секреты токсикологии. Линг Л. Дж. и др. / Пер. с англ. – М.: Бином; СПб.: Диалект, 2006. – 376 с. 3000 экз.

Селлар В. **Энциклопедия эфирных масел /** Пер. с англ. – М.: ФАИР-Пресс, 2005. – 400 с. 4600 экз.

Сиволап Ю.П., Савченков В.А. **Злоупотребления опиоидами и опиоидная зависимость.** – М.: Медицина, 2005. – 304 с. 3000 экз.

Фармакология: Учеб. для вузов / Под ред. Р.Н.Аляутдина. – 3-е изд., испр. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 592 с. – (XXI век). 2000 экз.

Харкевич Д.А. **Фармакология с общей рецептурой: Учеб. для вузов.** – 2-е изд., перераб., доп. – М.: МИА, 2005. – 440 с. 5000 экз.

WHO Library Cataloguing in Publication Data. Chemical-specific adjustment factors for interspecies differences and human variability: guidance document for use of data in dose/concentration-response assessment (IPCS harmonization project, № 2). WHO, Geneva, 2006.

Опубликованные документы Международной программы по химической безопасности (IPCS) можно просмотреть на веб-странице: <http://www.who.int/ipcs/en>

К.К.Сидоров, А.А.Виноградова

ИНФОРМАЦИЯ

ФГУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора извещает о том, что в марте-апреле 2006 г. закончился срок действия государственной регистрации следующих веществ

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер государственной регистрации	Дата окончания срока госрегистрации
1	2-Хлорбензолсульфонамид $C_6H_6ClNO_2S$	6961-82-8	о-Хлорбензолсульфамид, 2-хлорбензолсульфамид	ВТ 001741	23.03.2006
2	Карбодигидразид CH_6N_4O	497-18-7	1,3-Диаминомочевина, 1,3-диаминокарбамид, карбогидразид	ВТ 001744	10.04.2006
3	Натрий азид N_3Na	26628-22-8	Натриевая соль азотистоводородной кислоты, натрий тринитрид, азид натрия	АТ 001745	10.04.2006
4	5-[[4-(Диэтиламино)фенил]азо]-1,4-диметил-1Н-1,2,4-триазаолий-метилсульфат $C_{15}H_{24}N_6O_4S$	23532-28-7	1,4-Диметил-3-(4-диэтиламинофенилазо)триазаолий-1,2,4-метилсульфат, краситель основной красный 22, катионный красный 2С, Basic red 22, Cationic red 2S, С.1.11055, Кратакрил красный 2С	ВТ 002430	03.03.2006
5	1,1-Диметилгидразин $C_2H_8N_2$	57-14-7	Димазин, N,N-диметилгидразин, диметилгидразин асимметричный, диметилгидразин несимметричный	ВТ 002431	05.03.2006
6	Пиперидин $C_5H_{11}N$	110-89-4	Азациклогексан, гексагидропиперидин, пентаметиленимин, пиперидин	ВТ 002433	19.03.2006
7	1,3,5,7-Тетраазатрицикло[3.3.1.1.1] ^{3,7} декан кальций дихлорид (2:1) декагидрат $C_{12}H_{24}CaCl_2N_8 \cdot 10H_2O$	5743-25-	Комплексная соль гексаметилентетрамина с кальций дихлоридом десятиводная, Кальцекс	ВТ 002434	24.03.2006
8	3-Гидрокси-2-(гидроксиметил)-2-метилпропаналь) $C_5H_{10}O_3$	18516-18-2	3-Гидрокси-2-(гидроксиметил)-2-метилпропионовый альдегид, 3-гидрокси-2-(гидроксиметил)-2-метилпропаналь)	ВТ 002435	27.03.2006

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер государственной регистрации	Дата окончания срока госрегистрации
9	17-(Ацетилокси)-6-метилпрегна-4,6-диен-3,20-дион $C_{24}H_{32}O_4$	595-33-5	17- α -Ацетокси-6-дегидро-6-метилпрогестерон, 6-дегидро-6-метил-17- α -ацетоксипрогестерон, 17-гидрокси-6-метилпрегна-4,6-диен-3,20-дионацетат, мегестролацетат	ВТ 002436	01.04.2006
10	Индий моноарсенид AsIn	1303-11-3	Индий арсенид	АТ 002437	04.04.2006
11	3',6'-Дигидрокси-спиро[изобензофуран-1(3Н),9'-[9Н]ксантен]-3-он динатрия $C_{20}H_{10}Na_2O_5$	518-47-8	9-орто-Карбоксифенил-6-гидрокси-3-изоксантон динатрия, гидроксид-орто-карбоксифенилфлуорон натриевая соль, резорцинолфталин натрия, флуоресцеин динатрия, 2-(6-гидрокси-3-оксо-3Н-ксантен-9-ил)бензоат динатрия, краситель органический уранин А, краситель органический кислотный желтый 73, Уранин, С.І. 45350, С.І. Acid Yellow 73	ВТ 002438	04.03.2006
12	N-Этил-N-[4-[[4-[этил[(3-сульфофенил)метил]амино]фенил](2-сульфофенил)метил]-2,5-циклогексадиен-1-илиден]-3-сульфобензолметанаминийгидроксид внутренняя соль, диаммония соль $C_{37}H_{42}N_4O_9S_3$	2650-18-2	Краситель органический кислотный синий 9, Альфазурин (Alphazurine), С.І.42090 Acid Blue FCF, С.І.Food Blue 2, Brilliant Blue 9, Duasyn Acid Blue AE 02	ВТ 002439	08.04.2006
13	Бис(гидрированный талловый алкил)диметиламиний монтмориллонит	68911-87-5	Бентонит органофильный, Тиксогель VP ПО 9дельта/155/8Wg	ВТ 002441	14.04.2006
14	Поли-1,4- β -о-ацетатбутаноат-D-пиранозил-D-глюкопираноза $[C_{20}H_{30}O_{14}]_n$	9004-36-8	Ацетобутиловый эфир целлюлозы, ацетобутират целлюлозы, целлюлозоацетбутират	ВТ 002442	14.04.2006
15	Бутан-2-оноксим C_4H_9NO	96-29-7	Этилметилкетоксим, метилэтилкетоксим, Метоксим 100	ВТ 002443	15.04.2006
16	Казеин	9000-71-9	Казеин технический; входит в состав клея казеинового	ВТ 002444	15.04.2006
17	2,9-Бис[4-(фенилазо)фенил]-антра[2,1,9-def:6,5,10-d'e'f']диизохинолин-1,3,8,10(2Н,9Н)тетрон $C_{48}H_{26}N_6O_4$	3049-71-6	N,N'-Ди[(4-фенилазо)фенил]перилентетракарбонной-3,4,9,10-кислоты диимид, пигмент периленовый красный, палиоген красный L3910HD, С.І.71155 Pigment Red 178	ВТ 002447	17.04.2006
18	2,9-Диметилантра[2,1,9-def:6,-5,10-d'e'f']диизохинолин-1,3,-8,10(2Н,9Н)тетрон $C_{26}H_{14}N_2O_4$	5521-31-3	N,N'-Диметилперилентетракарбонной-3,4,9,10-кислоты диимид, Палиоген маррон L3920 (Paliogen Maroon L3920), С.І.71130 Pigment Red 179	ВТ 002448	17.04.2006
19	2-Гидрокси-1,2-дифенилэтанон $C_{14}H_{12}O_2$	119-53-9	Бензилфенилкарбинол, α -гидрокси- α -фенилацетофенон, фенилоксибензилкетон, 2-гидрокси-2-фенилацетофенон, фенил- α -гидроксибензилкетон, Бензоин	ВТ 002449	17.04.2006
20	Декафторбутан C_4F_{10}	355-25-9	Перфторбутан, Фреон 31-10, Хладон 31-10	ВТ 002451	24.04.2006

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер государственной регистрации	Дата окончания срока госрегистрации
21	Тетрадекафторгексан C_6F_{14}	355-42-0	n-Тетрадекафторгексан, перфтор-n-гексан, тетрадекафторгексан	ВТ 002452	28.04.2006
22	диНатрий октаборат тетрагидрат	12280-03-4	Натрий октаборнокислый четырехводный, натрий октаборат тетрагидрат, полибор; входит в состав Антиблю Селект (Antiblu Select)	АТ 002453	29.04.2006
23	3-Иодпроп-2-инилбутилкарбамат $C_8H_{12}INO_2$	55406-53-6	3-Иод-2-пропилиловый эфир бутилкарбаминової кислоты, Troysan КК-108А, Thoysan polyphase antimildew; входит в состав Антиблю Селект (Antiblu Select)	ВТ 002454	29.04.2006
24	Алкил C_{12-18} -диметилбензолметанаминийхлорид $C_{21-27}H_{38-50}ClN$	68391-01-5	Алкил C_{12-18} -диметилбензиламмоний хлорид; входит в состав Антиблю Селект (Antiblu Select)	ВТ 002455	29.04.2006
25	N-[5-Хлор-4-[(4-хлорфенил)-цианметил]-2-метилфенил]-2-гидрокси-3,5-дйодбензамид $C_{22}H_{14}Cl_2I_2N_2O_2$	57808-65-8	Клозантель (Closantel); входит в состав Клозантина(5%,10%,20%)	ВТ 002456	29.04.2006
26	5-Гидрокси-6-метил-(1H,3H)-пириимидин-2,4-дион $C_3H_6N_2O_3$	7417-28-9	6-Метилизобарбитуровая кислота, 5-окси-6-метилурацил	ВТ 002457	29.04.2006
27	Додецилсульфат натрия $C_{12}H_{25}NaO_4S$	151-21-3	Додецилсульфата натрия соль, серной кислоты монододециловый эфир натрия соль, лаурилсульфат натрия, Дюпонал, HYDROPON WA (DERMAN WA)	ВТ 002458	29.04.2006
28	4-(Гидроксиметил)-4-метил-1-фенилпиразолидин-3-он $C_{11}H_{14}N_2O_2$	13047-13-7	4-(Гидроксиметил)-4-метил-1-фенил-3-пиразолидинон, 1-фенил-4-метил-4-гидроксиметил-3-пиразолидин, Димезон S	ВТ 002459	30.04.2006

Производство и применение перечисленных веществ возможно только после их перерегистрации.

**ПЕРЕЧЕНЬ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ,
ПРОШЕДШИХ ГОСУДАРСТВЕННУЮ РЕГИСТРАЦИЮ
(печатается с продолжением, сообщение № 68*)**

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер гос. регистрации Номер РПОХБВ	Дата регистрации	Срок действия регистрации
1	Алкены C_{10-18} низкокипящая фракция, гидроформилированные	97552-94-8	Алкены C_{10-18} легкой дистилляции, гидроформилированные	77.99.27.8.У. 637.1.06 ВТ 002786	20.01.06	временно до 26.12.08

* Начало в № 4 за 1994 г.

№ п/п	Наименование вещества по IUPAC	№ CAS	Синонимы, торговые и фирменные названия	Номер гос. регистрации Номер РПОХБВ	Дата регистрации	Срок действия регистрации
2	3-[[4-[[4-[(6-Амино-1-гидрокси-3-сульфо-2-нафталенил)азо](6-сульфо-1-нафталенил)азо]-1-нафта-ленил]азо]нафталин-1,5-дисульфонат тетранатрия $C_{40}H_{23}N_7Na_4O_{13}S_4$	4399-55-7	Краситель органический прямой синий светопрочный; Direct Blue 71; C.I.34140	77.99.27.8.У. 335.1.06 ВТ 002782	19.01.06	постоянно
3	1-Амино-9,10-дигидро-9,10-диоксо-4-[[3-[[2-(сульфоокси)этил]сульфонил]фенил]амино]антрацен-2-сульфонат динатрия $C_{22}H_{16}N_2Na_2O_{11}S_3$	2580-78-1	Краситель органический активный синий 19; краситель активный ярко-синий КТ; Cavalite Brilliant Blue R; C.I. Reactive Blue 19; C.I.61200	77.99.27.8.У. 336.1.06 ВТ 002783	19.01.06	временно до 20.12.08
4	4-Аминобензолсульфонозная кислота $C_6H_7NO_3S$	121-57-3	Анилин-4-сульфонозная кислота; 4-сульфоанилин; п-аминобензолсульфонокислота; п-аминофенилсульфонокислота, сульфаниловая кислота	77.99.27.8.У. 13932.12.05 ВТ 002753	08.12.05	временно до 14.11.08
5	1,4-Бис(2-этилгексил)сульфобутандиоат натриевая соль $C_{20}H_{37}NaO_7S$	577-11-7	2-Этилгексилсульфосукцинат натрия, 1,4-Бис(2-этилгексильный) эфир сульфобутандиовой кислоты натриевая соль; диоктилсульфосукцинат натрия	77.99.11.8.У. 14127.12.05 ВТ 002756	09.12.05	временно до 29.11.08
6	Бис(трифенилсилил)-хромат(VI) $C_{36}H_{30}CrO_4Si_2$	1624-02-8	Трифенилсиланолхромат(VI); бис(трифенилсилил)эфир хромовой кислоты (H_2CrO_4), силлхромат	77.99.27.8.У. 5.1.06 ВТ 002752	10.01.06	временно до 14.11.08
7	2-Гидроксипропан-1,2,3-трикарбоновой кислоты монокальциевая соль $C_6H_7KO_7$	866-83-1	3-Гидрокси-3-карбоксиглутаровой кислоты монокальциевая соль, AUROCOR C CONCENTRATION SALT A MOD; AUROCOR C VERSTARKERSALZ TEIL A	77.99.27.8.У. 15113.12.05 ВТ 002758	26.12.05	временно до 09.12.08
8	Натрий алюмосиликат сульфированный	57455-37-5	Натрий алюминий сульфосиликат, пигмент синий 29; Pigment Ultramarine Blue; Azulultramar Nubix H-55; C.I.Pigment Blue 29; C.I.77007	77.99.26.8.У. 341.1.06 АТ 002784	17.01.06	временно до 26.12.08
9	Полимер 2-гидроксипропилового эфира крахмала с хлорметилоксираном $[(C_9H_{15}O_6)_m \cdot (C_3H_5ClO)_n]_x$	68412-87-3	Сополимер 2-гидроксипропилового эфира крахмала с эпихлоргидрином	77.99.11.8.У. 14128.12.05 ВТ 002754	09.12.05	временно до 29.11.08
10	Полимер проп-2-еновой кислоты с проп-2-енамидом натриевая соль $[(C_3H_4O_2)_m \cdot (C_3H_5NO)_n]_x$	25987-30-8	Сополимер акриловой кислоты с акриламидом натриевая соль	77.99.11.8.У. 14126.12.05 ВТ 002757	09.12.05	временно до 29.11.08
11	Формилбензолсульфонозная кислота $C_7H_6O_4S$	29061-48-1	Формилфенилсульфонозная кислота, формилбензолсульфонозная кислота; продукт WETTING AGENT NI AM 19 (водный раствор вещества)	77.99.27.8.У. 15112.12.05 ВТ 002759	26.12.05	временно до 09.12.08