

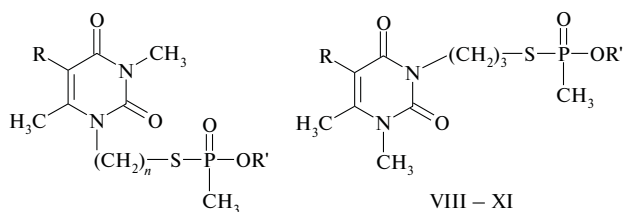
## БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФОСФОРИЛИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 6-МЕТИЛУРАЦИЛА

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

Как уже сообщалось [1, 2], среди тетраалкиламмониевых производных 6-метилурацила обнаружен новый класс высокоингибируемых и необратимых ингибиторов ацетилхолинэстеразы (АХЭ; НФ 3.1.1.7), не содержащий ацилирующих или алкилирующих функций. По своим антихолинэстеразным свойствам новые соединения близки к самым мощным фосфорорганическим ингибиторам (ФОИ) типа зомана и  $V_x$ , проявляют относительно низкую токсичность и характеризуются большой широтой терапевтического действия (вызывают миорелаксанта́ный эффект в дозах в 30 – 60 раз более низких, чем смертельные) [3]. Это не свойственно известным классическим ингибиторам холинэстераз, для которых смертельные и эффективные дозы практически совпадают [4].

Кроме того, нами показано, что по отношению к лабораторной культуре рачков *Daphnia magna* новый класс ингибиторов холинэстераз оказался также существенно менее токсичным по сравнению с классическими ФОИ [5].

Можно было предположить, что все эти особенности фармакологической активности новых соединений обусловлены наличием в их структуре N-замещенного урацилового цикла, поскольку все соединения близкой структуры, но не содержащие урацилового или конденсированного урацилового цикла, теряли отмеченные выше особенности. Для того, чтобы проверить данное предположение, мы исследовали ряд производных алкилфосфоновых кислот (I – XII), имеющих структуру классических ФОИ, однако содержащих в алкильном радикале урациловый цикл. Соединения I – XII получали взаимодействием соответствующих  $\omega$ -галогеналкилпроизводных 6-метилурацила с солями тиофосфоновых кислот [6].



где  $n = 3$  (I, VII), 4 (II), 5 (V, VI, XII), 6 (III), 8 (IV).  
R = H (I – IV, VIII, XI, XII), Br (VI, VII, X), Cl (V, IX).  
R' – изобутил (I – X), циклопентил (XI, XII).

### Методы исследования

Первичную токсикологическую оценку соединений I – XII при внутрибрюшинном введении в виде водно-ацетоновых растворов проводили в острых опытах на

белых беспородных мышах обоего пола массой  $19,0 \pm 2,0$  г, а также на лабораторной культуре дафний *Daphnia magna* в возрасте не более 24 ч, содержащейся в стандартных условиях [7]. Чувствительность культуры *Daphnia magna*, оцененная по величине ЛК<sub>50</sub><sup>24ч</sup> калия бихромата, составила 1,2 мг/л, т.е. находилась в пределах нормы [7]. Время наблюдения за подопытными животными — 72 ч (мыши) и 48 ч (дафнии).

Результаты опытов обрабатывали по методу Литчфильда и Уилкоксона в модификации Рота [8] (а также по  $t$ -критерию) с помощью специального пакета программ. В качестве показателей токсичности были использованы среднесмертельные дозы (ЛД<sub>50</sub>, для мышей) и концентрации (ЛК<sub>50</sub><sup>48ч</sup>, для дафний).

Для установления ЛК<sub>50</sub><sup>48ч</sup> каждое соединение вводили 3 группам дафний (по 30 дафний на каждую концентрацию;  $n = 90$ ); для установления ЛД<sub>50</sub> и ЭД<sub>50</sub> каждое соединение вводили 4 группам мышей (по 6 мышей на каждую дозу;  $n = 24$ ).

Симптоматика отравления соединением XII при внутривенном введении его водно-ацетонового раствора фиксировалась на кроликах-самцах породы “советская шиншилла” массой  $3,0 \pm 0,5$  кг.

Влияние соединений I – XII на физическую работоспособность изучали на предварительно тренированных на тротуаре (“бегущая дорожка” Nichon Kohden, Япония; скорость протяжки ленты 1 км/ч) мышам-самцам и самкам массой  $22,0 \pm 2,0$  г [9]. Исследуемые соединения и препарат сравнения армин вводили внутрибрюшинно за 5 мин до начала выполнения физической нагрузки. Контрольным мышам вводился физиологический раствор. Критерием миорелаксанта́ной активности соединений (ЭД<sub>50</sub>) служила неспособность тренированных к бегу мышей выполнять тестовую физическую нагрузку на тротуаре в течение 30 мин (мышечная слабость или миорелаксация).

Развитие миорелаксанта́ного эффекта в условиях функциональной нагрузки (высокая частота непрямой стимуляции или бег) является одним из основных симптомов действия антихолинэстеразных средств [10, 11].

Параллельное биотестирование на дафниях позволяло оценивать экологическую безопасность соединений.

### Результаты и их обсуждение

Установлено, что изученные соединения согласно классификации токсичности веществ [12] относятся к

| Соединение | Токсичность                                             |                                     | Миорелаксантная активность (ЭД <sub>50</sub> , мкМ/кг, в/б), тест "бег на третбане", мыши | Широта терапевтического действия (ЛД <sub>50</sub> /ЭД <sub>50</sub> , мыши) |
|------------|---------------------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
|            | ЛК <sub>50</sub> <sup>48ч</sup> (мкМ/л) (Daphnia magna) | ЛД <sub>50</sub> мкМ/мг, в/б (мыши) |                                                                                           |                                                                              |
| I          | 0,00290 (0,00248 – 0,00339)                             | 0,72 (0,61 – 0,84)                  | 0,43 (0,37 – 0,50)                                                                        | 1,67                                                                         |
| II         | 0,00109 (0,00092 – 0,00130)                             | 2,76 (2,32 – 3,28)                  | 1,38 (1,16 – 1,64)                                                                        | 2,00                                                                         |
| III        | 0,00063 (0,00052 – 0,00076)                             | 3,84 (3,20 – 4,61)                  | 1,92 (1,60 – 2,30)                                                                        | 2,00                                                                         |
| IV         | 0,00076 (0,00063 – 0,00093)                             | 4,78 (3,92 – 5,83)                  | 3,58 (2,94 – 4,37)                                                                        | 1,33                                                                         |
| V          | 0,00051 (0,00042 – 0,00062)                             | 2,24 (1,84 – 2,73)                  | 1,83 (1,50 – 2,23)                                                                        | 1,23                                                                         |
| VI         | 0,00057 (0,00047 – 0,00070)                             | 3,84 (3,15 – 4,69)                  | 2,42 (1,98 – 2,95)                                                                        | 1,59                                                                         |
| VII        | 0,00211 (0,00173 – 0,00257)                             | 1,29 (1,05 – 1,57)                  | 0,70 (0,58 – 0,86)                                                                        | 1,83                                                                         |
| VIII       | 0,01234 (0,01055 – 0,01444)                             | 0,72 (0,61 – 0,84)                  | 0,57 (0,49 – 0,67)                                                                        | 1,25                                                                         |
| IX         | 0,00229 (0,00191 – 0,00275)                             | 0,65 (0,54 – 0,78)                  | 0,42 (0,35 – 0,50)                                                                        | 1,56                                                                         |
| X          | 0,00288 (0,00238 – 0,00348)                             | 0,59 (0,48 – 0,71)                  | 0,47 (0,39 – 0,57)                                                                        | 1,25                                                                         |
| XI         | 0,00213 (0,00179 – 0,00254)                             | 0,64 (0,54 – 0,76)                  | 0,55 (0,47 – 0,66)                                                                        | 1,15                                                                         |
| XII        | 0,00055 (0,00045 – 0,00067)                             | 1,54 (1,27 – 1,88)                  | 0,77 (0,63 – 0,94)                                                                        | 2,00                                                                         |
| Армин      | 0,0028 (0,0025 – 0,0031)                                | 3,11 (2,82 – 3,43)                  | 1,14 (1,03 – 1,26)                                                                        | 2,73                                                                         |

чрезвычайно токсичным (таблица). В целом соединения вызывают симптомы, характерные для действия антихолинэстеразных веществ: выраженные мышечные фибрилляции, избыточная саливация и потливость, одышка, вялые судорожные подергивания, миоз, мышечная слабость (особенно задних конечностей). По уровням острой токсичности (ЛД<sub>50</sub>, мыши; ЛК<sub>50</sub><sup>48ч</sup>, дафнии) и широты терапевтического действия (ЛД<sub>50</sub>/ЭД<sub>50</sub>) изученные соединения сопоставимы с армином (таблица).

Наибольшую миорелаксантную активность, а также острую токсичность (мыши) проявляют соединения, в молекулах которых фосфор удален от диметилурацилового фрагмента на 3 метиленовые группы (соединения I, VII – XI). Примечательно, что на дафниях эти же соединения оказались наименее токсичными из изученных. Наличие атомов Cl или Br в положении 5 диметилурацилового фрагмента соединений формулы II (сравни соединения VIII и IX, X) и циклопентильного радикала при атоме фосфора (соединение XII) приводит к увеличению токсичности на дафниях; на мышях влияние этих факторов не носит достоверного характера. Увеличение длины полиметиленовой цепи от  $n = 3$  до  $n = 8$  (соединения I – IV) сопровождается достоверным снижением острой токсичности и миорелаксантной активности на мышях, но ростом токсичности на дафниях.

Таким образом, изученные фосфорилированные N-алкилурацилы не проявляют характерных для тетраалкиламмониевых производных 6-метилурацила особенностей фармакологического действия. Это указывает на то, что последние не связаны однозначно с наличием в структуре тетраалкиламмониевых производных

6-метилурацила N-замещенного урацилового цикла. Кроме того, вероятно, имеются существенные различия в геометрии взаимного расположения урацилового цикла относительно тетраалкиламмониевой и фосфорной группировок, а также различия в их фармакокинетики на уровне целого организма.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. С. Резник, К. А. Аникиенко, В. К. Курочкин и др., *Докл. РАН*, **362**(1), 68 – 70 (1998).
2. К. А. Аникиенко, Е. А. Бычихин, В. К. Курочкин и др., *Докл. РАН*, **376**(6), 818 – 822 (2001).
3. В. В. Зобов, В. С. Резник, В. Д. Акамсин и др., *Тез. докл. I съезда токсикологов России*, Москва (1998), с. 50.
4. С. Н. Голиков, В. И. Розенгарт, *Холинэстеразы и антихолинэстеразные вещества*, Медицина, Ленинград (1964), с. 382.
5. L. Berezinsky, N. Stepanova, V. Zobov, *Internat. conf. "Water is life — take care of it"*, Bratislava (2001), pp. 362 – 365.
6. V. S. Reznik, V. D. Akamsin, G. I. Podzigun, et al., *XI Internat. conf. on chemistry of phosphorus compound*, Kazan (1996), p. 80.
7. Г. С. Фомин, Г. С. Ческис, *Вода. Контроль химической, бактериальной и радиоактивной безопасности по международным стандартам*, Геликон, Москва (1992), сс. 328 – 334.
8. М. Л. Беленький, *Элементы количественной оценки фармакологического эффекта*, Изд-во медицинской литературы, Ленинград (1963), сс. 81 – 117.
9. М. Л. Рылова, *Методы исследования хронического действия вредных факторов среды в эксперименте*, Медицина, Москва (1964), сс. 94 – 102.
10. В. Б. Прозоровский, Н. В. Саватеев, *Неантихолинэстеразные механизмы действия антихолинэстеразных средств*, Медицина, Ленинград (1976), сс. 64 – 80.
11. F. Hobbiger, *Handbook of exp. pharmacol.*, ed. E. Zaimis, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, N. Y., v. 42, ch. 4C, 487 – 581 (1976).
12. И. В. Саноцкий, И. П. Уланова, *Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений*, Медицина, Москва (1975), сс. 55 – 59.

Поступила 16.07.02