

И.Н. Медведский, О.В. Николаюк, Б.В. Дубовик

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ПРОСТРАНСТВЕННО ЭКРАНИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АМИНОФЕНОЛА И ПИРОКАТЕХИНА

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

В токсикологическом эксперименте установлены параметры острой токсичности пространственно экранированных производных аминифенола и пирокатехина (соединения BO-03, BO-01, BS-08, BN-02, BN-07). Пространственно экранированные производные аминифенола (соединения BN-02, BN-07) и серосодержащее производное 3,5-ди-трет-бутилпирокатехина (соединение BS-08) оказались наименее токсичными соединениями, обладающими хорошей переносимостью.

Ключевые слова: острая токсичность, переносимость, внутрибрюшинный и внутривентрикулярный пути введения, пространственно экранированные фенолы, антиоксиданты

I. N. Miadzvedski, O. V. Nikolayuk, B. V. Dubovik

ACUTE TOXICITY OF SPATIALLY HINDERED DERIVATIVES OF AMINOPHENOL AND CATECHOL

The acute toxicity of spatially hindered derivatives of aminophenol and catechol (BO-03, BO-01, BS-08, BN-02, BN-07) was determined in toxicological experiments. Spatially hindered derivatives of aminophenol (compounds BN-02, BN-07) and sulfur-substituted derivarive of 3,5-di-tert-butylcatechol (compound BS-08) appeared to be less toxic and had good tolerability.

Key words: acute toxicity, tolerability, intraperitoneal and intragastric routes of administration, spatially hindered phenols, antioxidants

Пространственно экранированные (стерически затрудненные) фенолы – фенольные соединения, бензольное кольцо которых помимо гидроксильных групп содержит объемные алкильные заместители (чаще трет-бутильные) [6,10]. Введение таких заместителей позволяет снизить прочность связи между кислородом и водородом в гидроксигруппе, что приводит к повышению восстановительной способности этих соединений. Появление в структуре фенола и пирокатехина экранирующих заместителей приводит также к изменению физико-химических и биологических свойств производных соединений в сравнении с прототипами: в отличие от фенола и пирокатехина они менее гидрофильны, менее токсичны, обладают большей антиоксидантной и противомикробной активностью, а также противовоспалительными, нейропротекторными, противоопухолевыми свойствами [4,5,6,7]. Способность производных пирокатехина хелатировать ионы железа с образованием стабильных комплексов приводит к снижению пероксидного окисления липидов, индуцированного антрациклиновыми цитостатиками [13]. Вместе с тем высокие концентрации фенольных соединений оказывают выраженное прооксидантное и токсическое действие *in vivo*, обусловленное окислением исходных соединений в семихиноны и хиноны. При этом интенсифицируется генерация в клетках активных форм кислорода, происходит окисление SH-групп белков и глутатиона, ε-аминогруппы лизина, повреждение нуклеиновых кислот, нарушается трансмембранный потенциал [10,14].

Ранее показано, что отдельные экранированные производные аминифенола и пирокатехина – 4-третил-пирокатехин,

3,5-ди-трет-бутилпирокатехин, 3-(2-гидроксиэтилтио)-4,6-ди-трет-бутилпирокатехин, N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил)ацетамид, 4,6-ди-трет-бутил-2-фениламинофенол обладают выраженной антиоксидантной активностью в клеточных системах [3] и химических тестах [4], а также противовирусным [7] и ноотропным действием [6]. В этой связи перечисленные соединения представляют интерес для всестороннего изучения как потенциальных лекарственных средств.

Целью настоящего исследования была сравнительная оценка острой токсичности вышеперечисленных пространственно экранированных производных аминифенола и пирокатехина, а также отбор наиболее релевантных соединений для дальнейшего изучения фармакологической активности.

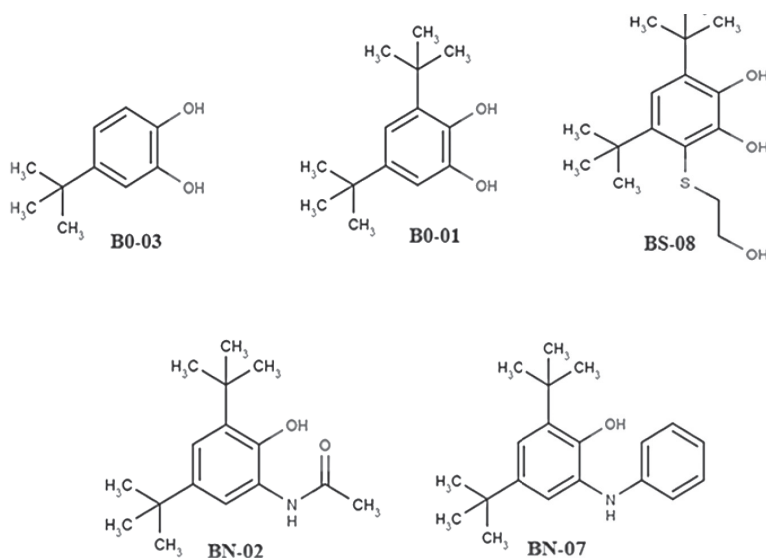


Рисунок. Химическая структура изученных соединений

Материал и методы

Реагенты. В работе использовали пространственно экранированные производные пирокатехина и аминифенола 4-трет-бутил-пирокатехин (BO-03), 3,5-ди-трет-бутилпирокатехин (BO-01), 3-(2-гидроксиэтилтио)-4,6-ди-трет-бутилпирокатехин (BS-08), N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил) ацетамид (BN-02), 4,6-ди-трет-бутил-2-фенил-аминофенол (BN-07), предоставленные кафедрой радиационной химии и химико-фармацевтических технологий Белорусского государственного университета. Суспензии испытуемых соединений готовились непосредственно перед введением подопытным животным на 1% крахмальном геле с использованием эмульгатора Твин 80 – «V.A.G. Chemie», Германия.

Изучение острой токсичности. Острую токсичность изучали на белых рандомбредных мышях-самках массой 18 – 28 г, которые содержались в стандартных условиях вивария НИЧ БГМУ. Животных распределяли в экспериментальные группы рандомно. Соединения BO-01, BO-03, BS-08, BN-02, BN-07 вводились однократно натошак внутрибрюшинно и внутривентриально. Каждое соединение испытывали в 4 – 5 дозах с логарифмическим шагом по 2 – 3 мыши на дозу. Наблюдение за животными проводилось в течение 14 суток. Общее действие испытуемых соединений оценивали по методике, описанной S. Irwin [11], учитывая динамику поведенческих реакций, неврологического и вегетативного статуса, характер, время возникновения, длительность и обратимость симптомов интоксикации, сроки гибели животных. В первые сутки наблюдения проводился непрерывный шестичасовой мониторинг состояния подопытных животных. Выжившие животные подвергались эвтаназии на 15-е сутки методом цервикальной дислокации. Трупы животных вскрывали, после чего проводилось макроскопическое описание патоморфологических изменений.

Значения медианной летальной дозы (LD₅₀) и границы 95% доверительного интервала (95% ДИ) определялись по

методу В. Б. Прозоровского и соавторов [8]. Острую токсичность испытанных соединений оценивали по классификации К. К. Сидорова [2], и согласованной на глобальном уровне системой классификации опасности и маркировки химической продукции (GHS) [9].

Результаты и обсуждение. Установлено, что соединения BO-01, BO-03, BS-08, BN-02, BN-07 оказывают сходное действие на поведение и общее состояние животных в субтоксических и токсических дозах, проявляющееся общим угнетением, гиподинамией, снижением мышечного тонуса. Летальное действие было отсроченным и наступало через 1 – 4-е сутки. При вскрытии погибших животных отмечалось полнокровие внутренних органов и гиперемия кишечника. В случае затяжного течения интоксикации (характерно для соединений BO-03 и BN-02) отмечались макроскопические изменения, свидетельствующие о печеночной и почечной дистрофии.

Значения LD₅₀ для пространственно экранированных производных пирокатехина (соединения BO-03, BO-01, BS-08) при внутривентриальном введении составили 564, 1040 и 1780 мг/кг, соответственно (таблица). В соответствии с классификацией GHS эти соединения можно отнести к 4-му классу (малотоксичные вещества). При внутрибрюшинном введении этих соединений LD₅₀ составило 81,5 мг/кг для BO-03, 112 мг/кг для BO-01 и 325 мг/кг. В этой связи соединения BO-01 и BS-08 были отнесены к 4-му классу (малотоксичные вещества), а соединение BO-03 – к 3-му классу (умеренно токсичное вещество) по классификации К. К. Сидорова.

При внутрибрюшинном введении значения LD₅₀ для соединений BO-03 и BO-01, выраженные в единицах массы (мг/кг) оказались близки, а дозы, выраженные в молярных единицах (ммоль/кг) практически идентичны, что свидетельствует о том, что введение дополнительной трет-бутильной группы в структуру 4-трет-бутилпирокатехина (соединение BO-03) не влияет на токсичность соединений при паренте-

Таблица. Значения параметров токсичности испытанных соединений при внутрибрюшинном и внутривентриальном введении

Вещества	Параметры	LD ₅₀ , мг/кг		LD ₅₀ , ммоль/кг		LD ₅₀ [*] внутривентриально LD ₅₀ [*] внутрибрюшинно
		внутрибрюшинно	внутривентриально	внутрибрюшинно	внутривентриально	
BO-03	М	81,5	564	0,49	3,40	6,92
	95% ДИ	54	342	0,33	2,06	6,33
		111	814	0,67	4,90	7,33
BO-01	М	112	1040	0,50	4,68	9,29
	95% ДИ	79	688	0,36	3,10	8,71
		147	1436	0,66	6,47	9,77
BS-08	М	325	1780	1,09	5,97	5,48
	95% ДИ	171	1119	0,57	3,76	6,54
		502	2535	1,68	8,51	5,05
BN-02	М	1410	3550	5,62	14,14	2,52
	95% ДИ	678	2488	2,70	9,91	3,67
		2094	4612	8,34	18,37	2,20
BN-07	М	~3160	>3160	~10,64	>10,64	>1,00

ральном введении. Вероятно, что такие различия обусловлены тем, что молекулярной детерминантой, определяющей токсические свойства (токсикофор) изученных пространственно экранированных производных пирокатехина, является пирокатехиновое кольцо.

Влияние пути введения на токсичность пространственно экранированных производных пирокатехина было выражено в значительной степени (соотношение $LD_{50\text{внутрижелудочно}}/LD_{50\text{внутрибрюшинно}} > 4$). Высокие значения данного соотношения указывают на существенную роль желудка и кишечника, а не печени в ограничении биодоступности экранированных производных пирокатехина, поскольку при внутрибрюшинном введении химические соединения также попадают в печень по воротной вене, минуя, однако, ЖКТ [11].

Серосодержащее производное 3,5-ди-трет-бутилпирокатехина (соединение BS-08) оказалось менее токсичным по сравнению с соединениями BO-01 и BO-03. Снижение токсичности может быть обусловлено наличием в структуре соединения BS-08 остатка молекулы 2-меркаптоэтанола в орто-положении по отношению к гидроксигруппе, тем самым исключая образование ковалентных связей с макромолекулами, содержащими тиольные группы (реакции нуклеофильного присоединения). Для интоксикации соединением BS-08 было характерно наличие гиперемии кожных покровов на ушах и лакримации – биологические эффекты свойственные серосодержащим органическим соединениям. При вскрытии животных, подвергшихся воздействию соединения BS-08 макроскопические признаки, свидетельствующие о дистрофии печени и почек, не выявлены.

Значения LD_{50} для пространственно экранированных производных аминифенола (соединения BN-02 и BN-07) при введении внутрь составили 3550 мг/кг и свыше 3160 мг/кг, соответственно (таблица). Согласно классификации GHS соединения BN-02 и BN-07 относятся к 5-му классу (малотоксичные вещества). LD_{50} пространственно экранированных производных аминифенола при внутрибрюшинном введении составило 1410 мг/кг для соединения BN-02 и приблизительно 3160 мг/кг для соединения BN-07. В соответствии с классификацией К. К. Сидорова изученные соединения можно отнести к веществам 5-го (практически нетоксичное вещество) и 6-го (относительно безвредное вещество) классов, соответственно. Зависимость токсичности от пути введения для соединения BN-02 была выражена относительно слабо: значения LD_{50} при внутрижелудочном и внутрибрюшинном введении отличались в 2,5 раза. Пространственно экранированные производные аминифенола превзошли по безопасности наиболее токсичное из испытанных соединений BO-03 в 11 – 20 раз при внутрибрюшинном введении, и 3 – 4 раза при внутрижелудочном пути введения, если судить по значениям LD_{50} . Снижение токсичности пространственно экранированных производных аминифенола по сравнению с производными пирокатехина может быть обусловлено наличием только одной OH-группы в структуре производных аминифенола, а также наличием прочной внутримолекулярной водородной связи типа O—H...C=O в структуре соединения BN-02, а также O—H...N в соединении BN-07 [1].

Выводы

1. Соединения 4-трет-бутил-пирокатехин (BO-03), 3,5-ди-трет-бутилпирокатехин (BO-01), 3-(2-гидроксиэтилтио), 6-ди-трет-бутилпирокатехин (BS-08), N-(3,5- и рет-бутил-2-гидроксифенил)ацетамид (BN-02), 4,6-ди-трет-бутил-2-фенил-аминифенол (BN-07) являются алотоксичными при внутривнутрижелудочном введении.

2. Соединения 3-(2-гидроксиэтилтио)-4,6-ди-трет-бутилпирокатехин, N-(3,5-ди-трет-бутил-2-гидроксифенил)ацетамид, 4,6-ди-трет-бутил-2-фениламинифенол являются наименее токсичными из испытанных соединений и перспективными для дальнейшего изучения фармакологической активности.

Литература

1. Бельков, М. В. Внутримолекулярные водородные связи и антиоксидантная активность аминифенолов / М. В. Бельков, Г. А. Ксендзова, П. В. Кузнецов и др. // Журнал прикладной спектроскопии. 2007. Т.74, №5. С.577 – 582.
2. Березовская, И. В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения / И. В. Березовская // Химико-фармацевтический журнал. 2003. Т. 37, № 3. С. 32 – 34.
3. Бизунок, Н. А. Управление респираторным взрывом фагоцитов стерически затрудненными производными фенола / Н. А. Бизунок, Б. В. Дубовик, Г. И. Полозов, О. И. Шадыро // Медицинский журнал. 2011. Т. 36, № 2. С. 12 – 16.
4. Едимечева, И. П. Взаимодействие пространственно-экранированных фенолов и хинонов с органическими радикалами / И. П. Едимечева, Н. И. Островская, Г. И. Полозов, О. И. Шадыро // Журнал общей химии. 2005. Т. 75, № 4. С. 632 – 635.
5. Ершов, В. В. Пространственно-затрудненные фенолы / В. В. Ершов, Г. А. Никифоров, А. А. Володькин. М.: Химия, 1972. 352 с.
6. Михасько, Т. А. Пространственно-затрудненные фенолы – перспективный класс новых ноотропных средств / Т. А. Михасько, Б. В. Дубовик, О. И. Шадыро, Г. И. Полозов. Медицинские новости. 2002. Т. 82, №4. С. 81 – 84.
7. Петрекевич, Д. К. Синтез и противовирусная активность некоторых производных 3,5 ди-трет-бутилпирокатехина / Д. К. Петрекевич, В. А. Тимошук, О. И. Шадыро и др. // Химико-фармацевтический журнал. 1995. Т. 29, № 12. С. 32 – 34.
8. Прозоровский, В. Б. Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки / В. Б. Прозоровский, М. П. Прозоровская, В. М. Демченко // Фармакология и токсикология. 1978. Т. 41, № 4. С. 497 – 501.
9. *Согласованная* на глобальном уровне система классификации опасности и маркировки химической продукции (СГС). Режим доступа: <http://www.6pl.ru/asmapp/ghs/ghs.htm>. Дата доступа: 07.09.2012.
10. Bolton, J. L. Role of quinones in toxicology / J. L. Bolton, M. A. Trush, Tr. M. Penning et al. // Chemical research in toxicology. 2000. Vol.13, № 3. P. 136 – 160.
11. Irwin, S. Comprehensive observational assessment: Ia. A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse / S. Irwin // Psychopharmacologia. 1968. Vol. 13, № 3. P. 222 – 257.
12. Lukas, G. The route of absorption of intraperitoneally administered compounds / G. Lukas, Sh. D. Brindle, P. Greengard // JPET. 1971. Vol. 178, №3. P. 562 – 566.
13. Nakano, M. Novel and potent biological antioxidants on membrane phospholipid peroxidation: 2-hydroxy estrone and 2-hydroxy estradiol / M. Nakano, K. Sugijoka, I. Naito et al. // Biochemical and Biophysical Research Communications. 1987. Vol. 142, №3. P. 919 – 924.
14. Schweigert, N. Chemical properties of catechols and their molecular modes of toxic action in cells, from microorganisms to mammals / N. Schweigert, A. J. B. Zehnder, R. I. L. Eggen // Environmental Microbiology. 2001. Vol. 3, № 2. P. 81 – 91.

Поступила 5.10.2013 г.