

Камчибекова Чолпон
ОИӨК «Кыргызстан эл аралык университети»
«Фундаменталдык дисциплина» кафедрасы
д.м.н., доцент

Камчибекова Чолпон
УНПК «Международный университет Кыргызстана»
кафедра «Фундаментальных дисциплин»
д.м.н., доцент

Kamchibekova Cholpon
ERPC “International University of Kyrgyzstan”
Department of Fundamental Disciplines
Dr.Sci. (Medicine), docent
kamchibekova50@mail.ru

ГЛИКОЗИЛ-НИТРОЗОМЕТИЛКАРБАМИД-1 МЕНЕН ГАЛАКТОПИРАНОЗИЛ- НИТРОЗОМЕТИЛ КАРБАМИДДИН КУРЧ ТЕРС ТААСИРИН САЛЫШТЫРЫП ИЗИЛДӨӨ

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ГЛИКОЗИЛ- НИТРОЗОМЕТИЛМОЧЕВИНЫ-1 И ГАЛАКТОПИРОНОЗИЛ- НИТРОЗОМЕТИЛМОЧЕВИНЫ

COMPARATIVE STUDY OF THE ACUTE TOXICITY OF GLYCOSYL- NITROSOMETHYL UREA-1 AND GALACTOPYRONOSYL-NITROSOMETHYL UREA

Аннотациясы: Нитрозометилмочевинанын (НММ) углеводдук туундуларын иштеп чыгууда көптөгөн биологиялык активдүү заттардын эң маанилүү структуралык элементтери болгон гликозиддик байланыштардын катышуусун, углеводдордун структуралык өзгөчөлүктөрүн жана реактивдүүлүгүн изилдөө пландаштырылган. Бул көйгөйгө болгон кызыгуу дары-дармектердин кошумча таасирлеринин чөйрөсүнүн кеңейиши менен түшүндүрүлөт, мисалы, кээ бир дары-дармектер эндокриндик системада өзгөрүүлөрдү пайда кылат, мисалы, иммуносупрессивдүүлүк, нейротоксикалык, ж.б. таасирлерди көрсөтөт. Заманбап медицина илимий-техникалык прогресстин жетишкендиктери менен бирге организмдеги метаболиттерге жакын болгон, жаңы ракка каршы дарыларды түзүүгө кызыктар, анткени ал дарылардын организмге терс таасирдүүлүгү аз, суюктукта жакшы ээрийт жана оң таасир этүү мүмкүнчүлүгүнө ээ [5]. Ушуга байланыштуу химиотерапевтикалык каражаттарды изилдөө фармакологияда жана онкологияда келечектүү багыт болуп саналат. Мында белгилүү орунду НММнын углеводдук туундулары, атап айтканда, гликозил-нитрозометилмочевина-1 (гликозил-НММ-1) жана галактопирозил-нитрозометилмочевина (гликозил-НММ-2) заттары ээлейт.

Гликозил-НММ-1 затынын курч терс таасирдүүлүгүн изилдөө боюнча эксперименттер гликозил-НММ-2 заты менен салыштырылып, эксперименталдык жаныбарлардын ар кандай түрлөрүнө жүргүзүлгөн. Эксперименттеги жаныбарлардын 50% өлүмүнө алып келген ЛД₅₀ дозасын аныктоо үчүн Литчфилд жана Вилкоксон ыкмасы колдонулган. Фармакологиялык изилдөөлөрдүн негизинде гликозилдештирүү ыкмалары дарылардын терс таасирдүүлүк денгээлинин кескин төмөндөшүнө алып келери (ЛД₅₀ эки даражага азаят) жана ошол эле учурда сууда эригичтигинин жогорулатаары аныкталган [2].

Негизги сөздөр: сальшитырмалуу курч терс таасири, гликозил-НММ-1 жана гликозил-НММ-2 заттары, ичке жана кан тамырга киргизүү, LD₅₀, эксперименталдык жаныбарлар.

Аннотация: При разработке углеводных производных нитрозометилмочевины (НММ) предусматривалось изучение особенностей строения, реакционной способности углеводов с участием гликозидных связей, которые являются важнейшими структурными элементами многих биологически активных веществ. Интерес к данной проблеме объясняется расширением сферы побочных действий препаратов, например, некоторые средства вызывают изменения в эндокринной системе, проявляют иммунодепрессивное действие, нейротоксичность и т.д. Современная медицина наряду с достижениями научно-технического прогресса заинтересована в создании новых противоопухолевых (ПО) средств, близких к метаболитам организма, поскольку они обладают малой токсичностью, хорошей растворимостью, избирательностью действия [5]. В связи с этим изучение химиотерапевтических (ХТ) средств является перспективным направлением в фармакологии, и онкологии, где определенное место принадлежит углеводным производным НММ, в частности, субстанции гликозил-нитрозометилмочевины-1 (гликозил-НММ-1) и галактопинозил-нитрозометилмочевины (гликозил-НММ-2).

Эксперименты по изучению острой токсичности субстанции гликозил-НММ-1 проводились на разных видах экспериментальных животных в сравнении с гликозил-НММ-2. По методу Литчфилда и Уилкоксона определялась доза LD₅₀, вызывающая гибель 50% животных. Фармакологическими исследованиями установлено, что гликозилирование приводит к резкому снижению количественной токсичности лекарственных веществ (LD₅₀ снижается на два порядка) и одновременно увеличивается водная растворимость [2].

Ключевые слова: сравнительная острая токсичность, субстанции гликозил-НММ-1 и гликозил-НММ-2, внутрибрюшинное и внутривенное введения, LD₅₀, экспериментальные животные.

Abstract: At developing carbohydrate derivatives of nitrosomethylurea (NMU) was planned the study of structural features and reactivity of carbohydrates with the participation of glycosidic bonds, which are most important structural elements of many biologically active substances. The interest in this problem is explained by the expansion of the scope of side effects of drugs, for example, some drugs cause changes in the endocrine system, exhibit an immunosuppressive effect, neurotoxicity, etc. The modern medicine along with the achievements of scientific and technological progress is interested in the creation of new anticancer drugs that are close to the metabolites of the body, since they have low toxicity, good solubility, and selectivity of action [5]. In this regard, the study of chemotherapeutic agents is a promising direction in pharmacology and oncology, where a certain place belongs to the carbohydrate derivatives of NMU, in particular, the substance glycosyl-nitrosomethylurea-1 (glycosyl-NMU-1) and galactopyronosyl-nitrosomethylurea (glycosyl- NMU-2).

The experiments to study the acute toxicity of the substance glycosyl-NMU-1 were carried out on different types of experimental animals in comparison with glycosyl-NMU-2. The Litchfield and Wilcoxon method were used to determine the LD₅₀ dose that caused the death of 50% of animals. The pharmacological studies were established that a glycosylation leads to a sharp decrease in the quantitative toxicity of drugs (LD₅₀ decreases by two orders of magnitude) and at the same time is increased water solubility [2].

Key words: comparative acute toxicity, glycosyl-NMM-1 and glycosyl-NMM-2 substances, intraperitoneal and intravenous administration, LD₅₀, experimental animals.

Введение. В связи с ростом онкологической заболеваемости в мире уделяют особое внимание созданию эффективных и безопасных противоопухолевых (ПО) лекарственных средств. Современная медицина наряду с достижениями научно-технического прогресса заинтересована в создании новых ПО средств близких к естественным метаболитам организма, поскольку они обладают малой токсичностью, хорошей растворимостью, избирательностью действия. Среди перспективных ПО препаратов значимое место занимают цитостатические средства – производные нитрозометилмочевины (НММ): N-нитрозо-N-метилмочевина; арабинопиранозил-N-метил-N-нитрозомочевина; этил-нитрозомочевина; кармустин; ломустин и др. Препараты являются алкилирующими агентами, обладают широким спектром ПО действия, часть средств входит в признанные международные схемы химиотерапии (ХТ). Производные НММ являются высокоэффективными препаратами, современная ХТ ряда опухолей немыслима без их использования (ломустин и кармустин при лимфомах, миеломах). Например, токсические свойства ПО препарата – нитрозомочевины (НМ) ограничивает спектр показаний и область использования препаратов. В связи с этими обстоятельствами поиск новых ПО субстанций с потенциалом ПО активности (ПОА) и с приемлемым уровнем токсичности в группе производных НММ является актуальным и интенсивно ведется в последние годы и в мире, и в России, и в Кыргызстане. Предполагается, что введение углеводных остатков в структуру физиологически активных соединений (ФАВ), и с их использованием, в частности, пара-аминобензойной кислоты (витамина В₁₀), приводит к резкому снижению токсичности, что позволяет использовать метод гликозилирования с применением В₁₀, как один из возможных путей получения высокоэффективных, малотоксичных ПО средств.

Интерес к данной проблеме объясняется и расширением сферы побочных действий препаратов. Большая часть ПО средств проявляют гемато-, иммуно-, нейротоксичность, вызывают изменения в эндокринной системе и т.д. [3]. В мировой статистике в высокоразвитых странах заболевания кроветворной, лимфоидной тканей занимают одно из ведущих мест среди причин смертности населения (ежегодно умирают 7-8 млн. человек). По прогнозам ВОЗ с 2030 по 2050 гг. предстоит интенсивный рост онкологических заболеваний в мире и смертность населения составит до 13,1-16 млн. ежегодно.

В последние годы наблюдается устойчивая тенденция роста населения к использованию ПО средств. Неудовлетворенность клиницистов результатами ПО ХТ является побудительным мотивом для экспериментальной фармакологии. Идет перманентный процесс поиска новых субстанций с потенциалом ПОА, актуальность исследования в области фармакологии ПО средств остается на высоком уровне все последние годы. Среди скрининговых работ выделяются чрезвычайно актуальные исследования по поиску близких к метаболитам организма субстанций с ПОА. Разработка прототипов средств, обладающих низкой токсичностью и высокой избирательностью ПО действия, стало одной из важнейших задач современной фармакологии.

Углеводсодержащие производные НММ, которые являются объектом исследования в данной работе, известны как субстанции с относительно низкой токсичностью и вероятностью широкого спектра терапевтического действия. Соединения этого класса уже послужили основой для разработки эффективных ПО препаратов. В связи с этим тема исследования, связанная с поиском, разработкой инновационных углеводных производных гликозил-НММ-1 и гликозил-НММ-2, обладающих низким потенциалом токсичности и широким спектром терапевтической эффективности, является актуальной [1].

На основании этой проблемы в Институте химии и фитотехнологий Национальной Академии наук Кыргызской Республики (ИХФ НАН КР) проводился в течение ряда лет направленный синтез производных НММ и в результате этих работ получены новые субстанции гликозил-НММ-1 и гликозил-НММ-2.

Для успешного решения важной проблемы в области ХТ, в разработке новых эффективных и безопасных ПО препаратов, обладающих выраженной ПОА предстояло изучить сравнительную острую токсичность субстанций и выбор оптимальных доз.

В настоящее время на фармацевтическом рынке стран СНГ, в том числе и в Кыргызстане, в основном доминируют дорогостоящие средства зарубежного производства и разработки, отечественные исследования единичны, при том, что фундаментальные наработки в области производных НММ известны.

Материалы и методы исследования. Для изучения острой токсичности субстанций гликозил-НММ-1 и гликозил-НММ-2 в опытах использовались «Временные методические рекомендации МЗ РФ. Требования к доклиническому изучению общетоксического действия новых фармакологических веществ», «Методические указания по доклиническому изучению фармакологических веществ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (М., 1998).

Опыты проведены на 120 белых беспородных мышах-самцах массой 22-25 г и крысах массой 180-200 г обоих полов, содержащихся в условиях вивария [4].

Испытанию подвергались субстанции гликозил-НММ-1 и при внутрибрюшинном (в/б) и внутривенном (в/в) введениях, приготовленные в дозах: (1800, 1900, 2100, 2200, 2400 мг/кг и 600, 700, 800, 900, 1000 мг/кг) и гликозил-НММ-2 (1700, 1900, 2000, 2100, 2200 мг/кг и 600, 800, 900, 1000, 1100 мг/кг) соответственно. Исходя из предельно допустимых объемов вводимой жидкости на 1 животное, растворы изучаемых средств, вводились однократно по 1 мл на 1 мышь и крысу в/б и в/в (Першин Г.Н., 1971) соответственно. Оценка результатов опыта проводилась через 24 часа после введения. Учитывалось состояние и процент погибших животных. Наблюдение за животными проводилось в течение 7 суток. По методу Литчфилда и Уилкоксона определялась ЛД₅₀ – доза, вызывающая гибель 50 % животных.

Результаты исследования и их обсуждение. Было сформировано по 5 групп. Каждая доза изучалась на 6 мышах и 6 крысах. I серия опыта проводилась на 30 белых беспородных мышах после в/б введения субстанции гликозил-НММ-1 в дозах: 1800 и 1900 мг/кг. Клиническая картина проявлялась в кратковременном беспокойстве, умеренной бледности мордочек, ушей, передних и задних конечностей, хвоста. Животные были активными, принимали корм и адекватно реагировали на внешние раздражители. При повышении дозы до 2100 мг/кг интенсивность вышеуказанных признаков увеличивалась, держалась длительно, животные становились пассивными. После увеличения дозы до 2200 мг/кг на фоне общей бледности, акроцианоза наблюдались вялость, влажность шерстного покрова, учащение дыхания, адинамия. Число погибших – 5 мышей. В дозе 2400 мг/кг в течение 2,5-3 часов животные погибали при клинической картине интоксикации (ЛД₁₆ = 1712 мг/кг; ЛД₅₀ = 1950 мг/кг; и ЛД₈₄ = 2275 мг/кг; ЛД₅₀ = 1950 (1695 ÷ 2321) мг/кг при P = 0,05) (табл. 1).

Субстанция гликозил-НММ-1 обладает невысокой токсичностью. ЛД₅₀ равняется 1950 мг/кг при однократном в/б и в/в введениях. Токсическое влияние однократно высокой дозы выражается в ухудшении состояния животных, снижения массы тела, сонливости, вялости, нарушения функции желудочно-кишечного тракта и угнетения гемопозза. Возникают конъюнктивиты. Обладает слабой обратимостью токсического действия. Гибель животных наступает через 1-1,5 часов [3, 5].

Таблица 1 – Определение острой токсичности соединения гликозил-НММ-1 на белых беспородных мышах путем внутрибрюшинного введения

№ пп	Показатели	Доза соединения гликозил-НММ-1, мг/кг				
		1800	1900	2100	2200	2400
1	Наблюдающийся эффект в пробитах	0/6	2/6	4/6	5/6	6/6
		3,76	4,20	5,43	5,97	6,20
2	в процентах	29,79	33,3	66,6	83,3	88,4
3	Ожидаемый эффект в пробитах	4,88	5,45	5,55	5,70	5,80
		45,2	50,52	70,8	75,8	78,8
4	в процентах	34,4	38,47	4,2	7,5	9,6
5	Разность между эффектами в процентах	0,48	0,54	0,009	0,03	0,05
6	χ^2					

ЛД₁₆ = 1712 мг/кг; ЛД₅₀ = 1950 мг/кг; ЛД₈₄ = 2275 мг/кг;
ЛД₅₀ = 1950 (1695 ÷ 2321) мг/кг при P = 0,05.

II серия эксперимента проведена на 30 крысах. После в/в введения гликозил-НММ-2 в дозах: 600 и 800 мг/кг клиническая картина выражалась в кратковременном беспокойстве, гиперсаливации, появлении икотных движений, бледности мордочек, ушей, передних и задних конечностей, хвоста. Животные принимали корм, были подвижны и реагировали на внешние раздражители. При повышении дозы до 900 мг/кг интенсивность, указанной клинической картины усилилась. Животные стали бездейственными. При увеличении дозы до 1000 мг/кг на фоне общей бледности и акроцианоза наблюдалась апатичность, влажность шерстного покрова, учащенное дыхание, адинамия и число погибших – 5 крыс. В дозе 1100 мг/кг в течение 2,5-3 часов погибли все животные при клинической картине интоксикации (ЛД₁₆ = 986 мг/кг; ЛД₅₀ = 1100 мг/кг; ЛД₈₄ = 836 мг/кг; ЛД₅₀ = 1100 (977 ÷ 1338) мг/кг при P = 0,05) (табл. 2).

Таблица 2 – Определение острой токсичности соединения гликозил-НММ-2 на белых беспородных крысах при внутривенном введении

№ пп	Показатели	Доза гликозил-НММ-2, мг/кг				
		600	800	900	1000	1100
1	Наблюдающийся эффект В пробитах	0/6	2/6	4/6	5/6	6/6
		1,32	1,54	2,44	2,84	3,1
2	В процентах	28,54	33,3	66,6	83,3	88,4
3	Ожидаемый эффект В пробитах	1,72	2,00	2,50	2,71	2,9
		45,2	52,7	70,8	75,8	78,8
4	В процентах	34,4	40,1	4,2	7,5	9,6
5	Разность между эффектами В процентах	0,16	0,19	0,004	0,014	0,025
6	χ^2					

ЛД₁₆ = 986 мг/кг; ЛД₅₀ = 1100 мг/кг; ЛД₈₄ = 836 мг/кг;
ЛД₅₀ = 1100 (977 ÷ 1338) мг/кг при P = 0,05.

Заключение. Таким образом, эксперименты проведенные на 60 белых беспородных мышах и 60 крысах по сравнительному изучению острой токсичности субстанции гликозил-

НММ-1, при однократном введении высоких доз показали, что субстанция является малотоксичным соединением. LD₅₀ при в/б введении равняется 1950 мг/кг, в/в – 717 мг/кг, по степени токсичности относится к IV классу.

Субстанция гликозил-НММ-2 обладает невысокой токсичностью, LD₅₀ равна 1100 мг/кг при однократном в/б и 330 мг/кг при в/в введении. Субстанция гликозил-НММ-1 при в/б и при в/в введения 2 раза менее токсична, чем субстанция гликозил-НММ-2. Растворы субстанции гликозил-НММ-2, приготовленные в соотношении 1:5 можно отнести к разряду малотоксичных препаратов, а 1:10 и 1:20 – нетоксичных.

Список использованной литературы:

1. Аткинсон А.Дж. Принципы клинической фармакологии. – М.: Прак. мед. 2013.-556 с.
2. Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Л.: Медгиз, 1972. – 151 с.
3. Зборовский А.Б., Тюренков И.Н., Белоусов Ю.Б. Неблагоприятные побочные эффекты лекарственных средств. – М.: Мед. информ. агенст., 2008. – 656 с.
4. Камчибекова Ч.К. Сравнительное изучение острой токсичности гликозил-семикарбазид-нитрофуруролов / Ч.К. Камчибекова, А.З. Зурдинов, Ж.А. Джаманбаев // Сб. науч. тр. – Бишкек: Илим, 2001. – С. 209-211.
5. Камчибекова Ч. Разработка противоопухолевого препарата гликозил-нитрозометилмочевина-1 и его влияние на внутренние органы экспериментальных животных при острой токсичности. / Вестник МУК. 2019. №2(39). Стр.59-66.

Проценко Л.Д., Булкина З.П. Химия и фармакология синтетических противоопухолевых препаратов. – Киев: Наук. Думка, 1985. –263 с.