

УДК 615.917'2/9:547.772.1+547.792.1

**ТОКСИКОКИНЕТИКА НЕКОТОРЫХ ИНГИБИТОРОВ НИТРИФИКАЦИИ  
И ЕЕ ЗНАЧИМОСТЬ В ПРОЯВЛЕНИИ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ**

Ю.А.Бунятян

*/НИИ гигиены окружающей среды и профилактической токсикологии МЗ РА/  
375108 Ереван, ул. Алабяна, 46*

**Ключевые слова:** ингибиторы нитрификации, пиразолы, триазол, параметры токсикометрии, токсикокинетика

Одной из разрабатываемых мер для получения низконитратной продукции растениеводства является использование с аммиачными формами или дающими аммиачные формы (карбамид) азотными удобрениями нового типа агрохимикатов — ингибиторов нитрификации (ИН). ИН значительно замедляют процессы окисления аммиачных форм в нитратные и дают возможность растениям использовать аммонийные формы удобрений, а не накапливать нитраты, которые являются источниками токсичных нитритов — предшественников канцерогенных нитрозосоединений [7]. Однако применение ИН выдвигает ряд гигиенических проблем, связанных, прежде всего, с их токсичностью. В литературе эти вопросы не освещены.

Наиболее перспективными среди ИН являются: 1-карбамоил-3(5)-метилпиразол (КМП); 1-гидроксиметил-3(5)-метилпиразол (ГММП); 4-амино-1,2,4-триазол (АТГ). В токсикологическом аспекте представляет интерес 3(5)-метилпиразол (МП) — метаболит КМП и ГММП.

Целью настоящей работы является выявление закономерных связей токсикокинетических характеристик ИН, представителей пиразолового и триазолового рядов, при пероральном поступлении их в организм теплокровных, с параметрами токсикометрии и проявлением токсического действия.

**Материал и методы**

Параметры токсикометрии, характер токсикодинамики ИН при однократном и многократном введении, а также в хроническом эксперименте выявлены на белых беспородных крысах и мышках. В статистически сравниваемых группах взяты 6–10 животных.

Показателями токсичности служили выживаемость животных, их поведение, общее состояние, масса тела, время появления клинических симптомов интоксикации и наступления летального исхода. Основным критерием оценки токсического действия при однократном введении препаратов в желудок является среднесмертельная доза ( $LD_{50}$ ), рассчитанная по методу пробит-анализа. Для установления действия ИН и сроков проявления его на некоторые физиологические функции при однократном введении препарата в желудок были испытаны дозы, равные 1/5, 1/10, 1/20, 1/50 и 1/100 от  $LD_{50}$ , при которых определялись и пороговые дозы. Выявленные изменения в изучаемых показателях при действии пороговых и действующих доз, регистрирующиеся как определенные функциональные изменения уже через 1–2 ч после введения препаратов, позволили при изучении кинетики поступления в кровь и выведения препаратов определить значимые сроки отбора биоматериала.

Кумулятивные свойства ИН изучены при ежедневном введении соединений в желудок животных в дозах 1/10, 1/20, 1/50 от  $LD_{50}$ , а в хроническом эксперименте использованы дозы 1/100, 1/1000, 1/10000 от  $LD_{50}$ .

В ходе выполнения настоящих исследований был использован комплекс различных токсикодинамических методов с привлечением широко применяемых биохимических, морфологических, физиологических и др. тестов и показателей [5].

Токсикокинетические исследования проведены в опытах с использованием доз 1/2, 1/5, 1/10 от ЛД<sub>50</sub> при пероральном введении. Биосреды анализировались на содержание ИН и их метаболитов методами, разработанными ранее [1–3], после введения препаратов через 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 12 и т.д. часов до отрицательного результата. В каждой из экспозиций для каждой дозы и каждого ИН анализировался усредненный биоматериал 6 животных. Исследованию подверглись печень, почки, легкие, сердце, селезенка, мозг, а также кровь. Для описания динамики концентраций ИН в организме избрана одночастевая математическая модель (кровь) токсикокинетики при внесосудистом пути введения [4,6].

### Результаты и обсуждение

В табл.1 приведены результаты исследований некоторых параметров токсичности ИН при их пероральном поступлении. Изученные соединения являются малотоксичными для крыс и мышей, за исключением метаболита МП и ГММП, которые для мышей среднетоксичны. Все изученные соединения и их смеси с карбамидом относятся к III классу опасности.

Таблица 1

Некоторые параметры токсичности ИН при их однократном пероральном поступлении в организм теплокровных

| ИН   | Максимально переносимая доза, мг/кг |       | Абсолютно смертельная доза, мг/кг |       | ЛД <sub>50</sub> , мг/кг |           | Сроки гибели, сутки |      | КВЧ   |      | Порог острого действия (крысы), мг/кг (доза от ЛД <sub>50</sub> ) | Зона острого действия |
|------|-------------------------------------|-------|-----------------------------------|-------|--------------------------|-----------|---------------------|------|-------|------|-------------------------------------------------------------------|-----------------------|
|      | крысы                               | мыши  | крысы                             | мыши  | крысы                    | мыши      | крысы               | мыши | крысы | мыши |                                                                   |                       |
| МП   | 800                                 | 50    | 1200                              | 500   | 1000±115                 | 240±12,1  | 1-3                 | 1-3  | -     | 4,2  | 10(1/100)                                                         | 100(широкая)          |
| КМП  | 600                                 | 600   | 2000                              | 1800  | 1280±129                 | 1040±110  | 1-3                 | 1-3  | -     | 1,2  | 64(1/20)                                                          | 20(средняя)           |
| ГММП | 1000                                | 50    | 2000                              | 600   | 1650±137                 | 310±53    | 1-3                 | 1-4  | -     | 5,3  | 33(1/50)                                                          | 50(широкая)           |
| АТГ  | 8000                                | 10000 | 20000                             | 14000 | 13600±1159               | 11680±444 | 2-3                 | 2-3  | -     | 1,2  | 1360(1/10)                                                        | 10(узкая)             |

Клиническая картина интоксикации подопытных животных в остром эксперименте выявляется уже через час после введения соединений в желудок, а гибель наступает в основном в первые трое суток.

Данные, полученные при изучении процессов всасывания, распределения, элиминации ИН во внутренних органах белых крыс после однократного перорального воздействия, свидетельствуют об их сравнительно быстром поступлении из ЖКТ в кровь и органы. Методическим приемом, которым руководствуются при использовании одночастевой модели токсикокинетики, является пренебрежение рядом элементарных актов перераспределения ксенобиотика между многочисленными частями организма. Вместо этого все количество препарата, находящееся в различных частях организма, приписывается содержанию его в крови, и уменьшение концентрации препарата в организме (крови) описывается с помощью одной константы — константы элиминации. Полученные результаты обобщены и обработаны, исходя из этого упрощения, а затем построены графики зависимости «концентрация—время», определены время полунасыщения (полуабсорбции) и полувыведения (полуэлиминации) и соответствующие константы абсорбции ( $k$ ) и элиминации ( $\kappa$ ) (табл.2). Выявление последних позволяет описать единой функцией поведение вещества в однофазной биологической системе при условии экспоненциального поступления в нее известной дозы вещества и одновременного удаления этой дозы (рис.).

Решение уравнения этой функции  $Y = D \cdot \frac{k}{\kappa - k} \cdot (e^{-\kappa t} - e^{-kt})$  позволяет рассчитать ряд

важнейших параметров (время максимального достижения концентрации, величину наибольшего подъема содержания вещества и др.) в прогностических целях.

Некоторые кинетические константы и расчетные характеристики процессов абсорбции и элиминации КМП, ГММП, АТГ в организме теплокровных

| ИН   | Период полуабсорбции (полунасыщения), ч | Период полуэлиминации (полувыведения), ч | Константа скорости абсорбции, $k_a$ , ч | Константа скорости элиминации, $k_e$ , ч | Биодоступность препарата, $f$ | Время достижения максимальной концентрации препарата в крови, $t_{max}$ , ч | Расчетное время выведения препаратов в остром эксперименте, ч |
|------|-----------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| КМП  | 0,8                                     | 9,20                                     | 0,87                                    | 0,08                                     | 0,01021                       | 3,02                                                                        | 12,53                                                         |
| ГММП | 1,70                                    | 12,70                                    | 0,41                                    | 0,05                                     | 0,00697                       | 5,84                                                                        | 20,05                                                         |
| АТГ  | 0,40                                    | 3,22                                     | 1,73                                    | 0,22                                     | 0,0058                        | 1,36                                                                        | 4,55                                                          |

Содержание препарата КМП в крови и в организме в целом достигает максимума через 3–4 ч (расчетное время – 3,02 ч) после введения. К этому времени развивается и клиническая картина острой интоксикации. Уже через час после введения КМП экспериментальные животные проявляют беспокойство, затем забиваются в угол с прикрытыми глазами, шерсть взъерошена, без блеска. Через 2–4 ч нарушается координация движений, у некоторых животных наблюдается парез конечностей. На болевые и тактильные раздражители животные реагируют слабо, часто принимают боковое положение. Через 1–3 суток в зависимости от введенной дозы наступает смерть. Животные погибают с сильными судорогами в боковом положении. У оставшихся животных симптомы интоксикации не исчезают до конца срока наблюдений (15 суток). КМП обнаруживается во всех исследованных органах, в том числе и в головном мозге, максимум содержания в котором также приходится на 2 ч. Именно на это время приходится и наибольший процент выпадения реакций УРД. Однако наибольшие количества КМП обнаруживаются в крови и печени. Через 72 часа практически полностью КМП выводится из организма.

Полученные данные по динамике накопления, распределения и выведения КМП из организма в остром эксперименте свидетельствуют о том, что он выводится из организма, частично метаболизируясь, с образованием нескольких метаболитов. В наибольших количествах обнаруживается соединение идентифицированное как МП. Характер образования и выведения МП из организма во всех органах идентичен.

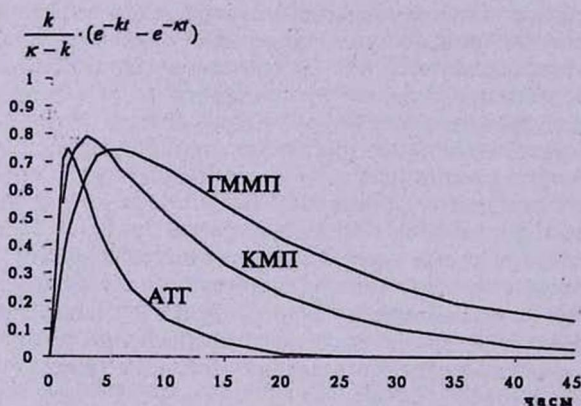


Рис. Кривые суммарного процесса абсорбции и элиминации КМП, ГММП, АТГ

Наиболее интенсивное превращение КМП происходит в печени и крови. Биоконцентрация метаболита в этих объектах достигает максимума через 2–4 ч после поступления КМП. Именно в эти сроки наблюдается ярко выраженная клиническая картина острого отравления. Некоторая продолжительность клинической картины отравления обусловлена постоянным образованием МП из поступающего КМП, в то время как проведенный аналогичный эксперимент с МП дает более яркую и несколько менее продолжительную картину острой интоксикации.

Результаты аналогичного эксперимента с ГММП показывают, что максимальное содержание препарата в организме наблюдается через 6ч (5,84ч — расчетное) после введения препарата. ГММП обнаруживается во всех органах, в том числе и в головном мозге, причем, максимальное содержание препарата во всех органах также приходится на интервал 4–6 ч после введения препарата. Через 96ч препарат обнаруживается в незначительных количествах, а через 5 суток он выводится полностью из организма. Клиническая картина острой интоксикации ГММП идентична с КМП и выражается аналогичными симптомами с той лишь разницей, что развивается несколько позднее (4–6 ч), а гибель животных также наблюдается в первые трое суток.

При введении в организм теплокровных АТГ, он обнаруживается во всех органах, в том числе и в головном мозге, достигая максимума в промежутке 1–2ч после введения (расчетное время — 1,36ч), что регистрировалось и в токсикологическом эксперименте, в частности изменениями УРД. В наибольших количествах АТГ обнаруживается в крови, печени и почках. Основные количества АТГ выводятся уже через сутки, однако незначительные количества определялись в биоматериале до 10–11 суток. При острой интоксикации АТГ клиническая картина не выражена. Уже через час после введения АТГ наблюдается кратковременное беспокойство, затем заторможенность. На болевые и тактильные раздражители животные реагируют с неохотой. Через 2–3 суток, в зависимости от введенной дозы они погибают. Неподлежащие животные через 2–3 суток не отличаются от контрольных.

Клиническая картина острой интоксикации КМП, ГММП и АТГ в основном однотипна. Различия лишь в временном аспекте ее проявления, что наглядно выявилось в процессе кинетических исследований. Клиника интоксикации и время достижения максимумов концентраций в органах животных, головном мозге и крови совпадают.

Учитывая кинетику процессов абсорбции и элиминации ИН, можно утверждать об отсутствии материальной кумуляции, что подтверждается и токсикологическими исследованиями.

Одним из важнейших выводов сопоставления кинетических и токсикологических исследований является соотношение между выделением вещества и уменьшением его действия, т.е. установление связи между дозой препарата и временем ее биологического действия. При условии, что пороговая доза ИН минимальная, при которой биологический эффект еще может быть зарегистрирован, с помощью константы элиминации рассчитывается время, за которое любая доза может снизиться до пороговой (табл. 3).

Таблица 3

Время биологического действия некоторых доз КМП, ГММП, АТГ

| Доза                                | КМП         |          | ГММП        |          | АТГ         |          |
|-------------------------------------|-------------|----------|-------------|----------|-------------|----------|
|                                     | Доза, мг/кг | Время, ч | Доза, мг/кг | Время, ч | Доза, мг/кг | Время, ч |
| Абсолютно смертельная               | 2000        | 42,84    | 2000        | 81,88    | 20000       | 12,63    |
| Максимально переносимая             | 600         | 27,83    | 1000        | 68,08    | 8000        | 8,05     |
|                                     | 1280        | 37,38    | 1650        | 72,20    | 13600       | 10,45    |
| Среднесмертельная, ЛД <sub>50</sub> | 640         | 28,75    | 825         | 64,40    | 6800        | 7,32     |
| 1/2 от ЛД <sub>50</sub>             | 256         | 17,25    | 330         | 46,00    | 2720        | 3,14     |
| 1/5 от ЛД <sub>50</sub>             | 128         | 8,63     | 165         | 32,20    | 1360*       | -        |
| 1/10 от ЛД <sub>50</sub>            | 64*         | -        | 82,5        | 18,40    | -           | -        |
| 1/20 от ЛД <sub>50</sub>            | -           | -        | 33*         | -        | -           | -        |
| 1/50 от ЛД <sub>50</sub>            | -           | -        | -           | -        | -           | -        |

\* Пороговые дозы соединений в остром эксперименте

Таким образом, токсикокинетические процессы, описанные одночастевой моделью токсикокинетики на основе экспериментальных констант абсорбции и элиминации ИН представителей пиразолового и триазолового рядов, тесно связанные с показателями токсичности и наблюдаемой клинической картиной острой интоксикации, свидетельствуют об отсутствии материальной кумуляции ИН, низкой биодоступности препаратов и дают возможность установить ряд важнейших характеристик в системе прогностических исследований токсического действия ксенобиотиков.

Поступила 15.10.99

**ՈՐՈՇ ՆԻՏՐԻԳԻԿԱՅՍԱՆ ԱՐԳԵԼԱԿԻՉՆԵՐԻ ԹՈՒՆԱՐԱՆԱԿԻՆԵՏԻԿԱՆ  
ԵՎ ՆՐԱ ՆՇԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ԹՈՒՆԱՐԱՆԱԿԱՆ ԱՉԴԵՑՈՒԹՅԱՆ  
ԱՐՏԱՀԱՅՏՍԱՆ ՀԱՄԱՐ**

**Յու. Ա. Բունյատյան**

Հետեռոցիկի շարքի միտրիֆիկացիայի արգելակիչների (ՆԱ) մերկայացուցիչների արտոքցիայի և էլիմինացիայի փորձարարական հաստատումների հիման վրա թունաքանակինետիկայի միաքաժին մոդելով նկարագրված թունաքանակինետիկ պրոցեսները, որոնք կապված են թունաքանական ցուցանիշների և դիտվող սուր թունավորման կլինիկական պատկերի հետ, վկայում են պատրաստուկների մյուրական կուտակման քաջակայության, ցածր կենսամատչելիության մասին և հմարավորություն են տալիս հաստատելու մի շարք կարևորագույն քննադրականներ այլաժին մյուրերի թունաքանական ազդեցության կանխատեսության հետազոտությունների համակարգում:

**TOXICOKINETICS OF SOME NITRIFICATION INHIBITORS AND ITS SIGNIFICANCE IN  
EXHIBITION OF TOXIC INFLUENCE**

**Y.A. Bunyatyan**

Toxicokinetic processes described by means of one-component toxicokinetic model based on the absorption and elimination experimental constants of nitrification inhibitors (NI) — representatives of pyrazolic and triazolic series, which are closely related to the indicators of toxicity and clinical picture of strong intoxication, testify to the absence of material NI cumulating effect, low bioaccessibility of preparations and allow to identify some important characteristics in the system of prognostic studies on toxic influence of xenobiotics.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. *Бунятян Ю.А., Петросян М.С.* В кн.: Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. М., 1992, I, с. 449.
2. *Бунятян Ю.А., Петросян М.С.* Там же, с. 491.
3. *Бунятян Ю.А., Петросян М.С.* Там же, с. 506.
4. *Голубев А.А., Люблина Е.И., Толоконцев Н.А., Филев В.А.* В кн.: Количественная токсикология. Л., 1973, с. 89.
5. Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов №4263-87: Утв. МЗ СССР 13.03.87/ МЗ СССР, ВНИИГИНТОКС. Киев, 1988.
6. *Холодов Л.Е., Яковлев В.П.* В кн.: Клиническая фармакокинетика. М., 1985, с. 419.
7. *Цыганенко О.И., Рымарь-Щербина Н.Б., Лапченко В.С., Ващенко Н.В.* Гигиена и санитария, 1991, с. 38.