

# ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ОТРАВЛЕНИЙ

## ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООТЕЧНОГО ДЕЙСТВИЯ СОЛЕЙ ДИФЕНИЛИОДИНИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ОТЕКЕ ЛЕГКИХ

П. А. Торкунов, А. В. Земляной, П. Д. Шабанов<sup>1</sup>

Синтезировали соли дифенилиодиния (хлорид, сульфат, ацетат и иодид) и исследовали их профилактическое и лечебное действие при токсическом отеке легких у крыс, вызванном фосгеном или тиомочевинной. При профилактическом применении соли дифенилиодиния обладали высокой противоэдематозной активностью на модели токсического отека легких, вызванного обоими токсическими веществами. Профилактическое применение дифенилиодиния при токсическом отеке легких было более эффективно, чем лечебное. Длительность противоотечного действия дифенилиодиния иодида превышала 24 ч. При этом эффективная доза дифенилиодиния в качестве противоэдематозного средства соответствовала 1/2 – 1/5 его LD<sub>50</sub>.

**Ключевые слова:** дифенилиодиний, токсический отек легких, фосген, тиомочевина, противоэдематозная активность, крысы

### ВВЕДЕНИЕ

Интерес к окиси азота (NO) обусловлен ее участием в регуляции множества функций, включая сосудистый тонус, агрегацию тромбоцитов, клеточную защиту и др. [2, 5, 6, 10]. Многие физиологические вазодилататоры оказывают свое действие через активацию синтеза окиси азота. NO рассматривается как эндогенный вазодилататор, который вырабатывается сосудистым эндотелием при физиологических состояниях. Вторая важная мишень NO — белки, содержащие SH-группы, при взаимодействии с которыми образуется S-нитротриол. Окись азота, накапливаясь в клетке в неадекватно большом количестве, может вызывать повреждение ДНК. Считается, что таким образом NO обеспечивает цитотоксический эффект при эндотоксемии, септическом шоке, воспалительных заболеваниях легких [7, 8]. Усиление воспалительных процессов под влиянием NO также связано с наличием третьей молекулярной мишени — активных форм кислорода. В основе этой реакции лежит способность медленно взаимодействовать с молекулярным кислородом и более быстро с супероксид-анионом. В водной среде NO и супероксид-анион подвергаются быстрому радикал-радикальному взаимодействию с образованием пероксинитрита, повреждающего клетки [5].

Биосинтез NO в организме происходит путем энзиматических превращений L-аргинина под влиянием специфического фермента нитрооксидсинтазы (NOS). Высказывается предположение, что гиперактивация NOS имеет место при целом ряде патологических со-

стояний, в том числе при токсическом отеке легких. В связи с этим в настоящее время особый интерес представляет фармакологическое ингибирование NOS при различных патологических процессах. Для этого используются производные L-аргинина, антагонисты кальмодулина, ингибиторы НАДФН и др. [6, 11, 12]. Цель данного исследования состояла в изучении эффективности ингибитора НАДФН дифенилиодиния (ДФИ) для профилактики и лечения поражения легких, вызываемого пульмонотоксическими ядами.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 160 – 220 г и белых беспородных мышцах-самцах массой 18 – 24 г, полученных из питомника Рапполово (Ленинградская область). Острую токсичность соединений определяли на мышцах и крысах. LD<sub>50</sub> вычисляли с использованием компьютерной программы *Probit Analysis*, пакета прикладных программ ТОКСИ (РГТИЦ, Санкт-Петербург) для персонального компьютера. Токсический отек легких (ТОЛ) моделировали путем ингаляции животными фосгена или внутрибрюшинным введением 2 % раствора тиомочевинной в дозе 100 – 150 мг/кг [1]. Фосген использовали в дозе 4,2 мг · мин/л, что соответствует LCt<sub>50-84</sub> [4, 8, 9]. Умерщвление животных осуществляли через 3 и 24 ч после отравления. Оценивали выживаемость животных через 24 ч от начала эксперимента и легочный коэффициент (ЛК), по которому судили о выраженности отека легких. ЛК вычисляли по формуле [2, 3, 8]:

$$\text{ЛК} = \text{масса легких} / \text{масса животного} \cdot 1000.$$

Изучали различные соли дифенилиодиния (ДФИ): хлорид, сульфат, ацетат, иодид. ДФИ-хлорид, ДФИ-су-

<sup>1</sup> Кафедра фармакологии (зав. — проф. П. Д. Шабанов) Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, 194044, ул. Акад. Лебедева, 6; shabanov@mail.rcom.ru

Таблица 1. Токсичность солей дифенилиодиния (ДФИ)

Вещество, растворитель, доза, путь введения	Животные			
	мыши		крысы	
	LD <sub>50</sub> (мг/кг)	δ	LD <sub>50</sub> (мг/кг)	δ
ДМСО 100 %, в/бр	10,48 (5,79 ÷ 18,94)	3,46	—	—
ДФИ-иодид (твин-80), в/бр	42,38 (24,18 ÷ 72,6)	6,01	22,56 (9,01 ÷ 388,80)	0,65
ДФИ-иодид (в 0,1 мл 100 % ДМСО), в/бр	37,62 (18,94 ÷ 70,8)	3,05	—	—
ДФИ-ацетат, в/бр	45,79 (25,32 ÷ 76,0)	4,61	15,28 (2,95 ÷ 27,64)	4,43
ДФИ-сульфат, в/бр	42,77 (10,73 ÷ 88,9)	7,70	19,61 (0,00 ÷ 43,12)	2,40
ДФИ-хлорид, в/бр	22,94 (9,56 ÷ 98,22)	9,60	11,24 (3,5 ÷ 36,04)	2,34

Примечание. в/бр — внутрибрюшинное введение.

льфат и ДФИ-ацетат растворяли в дистиллированной воде; ДФИ-иодид при этом предварительно суспензировали в эмульгаторе твин-80, либо растворяли в 0,5 мл 100 % диметилсульфоксида (ДМСО). Препараты вводили внутрибрюшинно (при отравлении животных фосгеном) или подкожно (при отравлении тиомочевинной) за 30 – 60 мин до инициации ТОЛ. Контрольные животные получали инъекцию растворителя в эквивалентном объеме.

Для статистической обработки полученных данных, представленных в виде  $M \pm m$ , использовали *t*-критерий Стьюдента. Обработку результатов, представленных в относительных единицах, осуществляли с использованием таблиц В. С. Генеса, основанных на точном методе Фишера для четырехпольной таблицы [3].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Эксперименты позволили установить, что исследованные соли дифенилиодиния обладают сравнительно высокой токсичностью (табл. 1). При этом токсичность соединений для крыс в 2 – 3 раза выше, чем для мышей. Как и следовало ожидать, LD<sub>50</sub> для ДФИ-иодида, растворенного в диметилсульфоксиде, была несколько выше, чем при суспензировании данного соединения в твине-80. При этом имеет значение самостоятельная токсичность ДМСО. По этой причине в ряде дальнейших экспериментов применяли ДФИ-иодид, суспензированный в твине-80.

Установлено, что исследованные соли дифенилиодиния проявляют значительную эффективность при профилактике отека легких, вызванного тиомочевинной

Таблица 2. Профилактическая эффективность солей дифенилиодиния (ДФИ) при токсическом отеке легких у крыс, вызванном внутрибрюшинным введением тиомочевины

Вещество, доза (мг/кг)	Легочный коэффициент (отн. ед.), 3 ч	Выживаемость, %
Интактные	6,5 ± 0,2	100
Контроль (тиомочевина 100 мг/кг + дист. вода)	13,4 ± 1,7	87,5
ДФИ-хлорид, 1 мг/кг	13,1 ± 1,7	60
ДФИ-хлорид, 2,5 мг/кг	12,6 ± 1,1	70
ДФИ-хлорид, 5 мг/кг	12,6 ± 1,4	100
ДФИ-хлорид, 10 мг/кг	9,7 ± 0,4 *	100
Контроль (тиомочевина 100 мг/кг + дист. вода)	14,7 ± 1,6	100
ДФИ-ацетат, 0,1 мг/кг	15,3 ± 2,5	50
ДФИ-ацетат, 1 мг/кг	13,9 ± 1,3	75
ДФИ-ацетат, 5 мг/кг	10,6 ± 1,1 *	100
ДФИ-ацетат, 10 мг/кг	10,4 ± 1,0 *	100
Контроль (тиомочевина 150 мг/кг + дист. вода)	8,9 ± 0,58	100
ДФИ-сульфат, 0,6 мг/кг	10,21 ± 0,43	60
ДФИ-сульфат, 1,3 мг/кг	10,31 ± 1,54	50
ДФИ-сульфат, 2,5 мг/кг	8,06 ± 0,77	50
ДФИ-сульфат, 5 мг/кг	7,82 ± 0,62	75
ДФИ-сульфат, 10 мг/кг	6,8 ± 0,32 *	100
ДФИ-сульфат, 20 мг/кг	6,74 ± 0,32 *	100

Примечание. Здесь и в табл. 3 – 5 \* —  $p \leq 0,05$  в сравнении с группой интактных животных.

Таблица 3. Профилактическая эффективность ДФИ-иодида при токсическом отеке легких у крыс, вызванном внутрибрюшинным введением тиомочевины

Вещество, доза (мг/кг)	Легочный коэффициент (отн. ед.) через		Выживаемость, %
	3 ч		
Интактные	6,3 ± 0,2		100
Контроль (тиомочевина, 150 мг/кг + дист. вода)	8,9 ± 0,6		100
ДФИ-иодид, 0,6 мг/кг в твине-80	10,2 ± 0,4		100
ДФИ-иодид, 1,3 мг/кг в твине-80	10,3 ± 1,5		100
ДФИ-иодид, 2,5 мг/кг в твине-80	8,1 ± 0,8		100
ДФИ-иодид, 5 мг/кг в твине-80	7,8 ± 0,6		100
ДФИ-иодид, 10 мг/кг в твине-80	6,8 ± 0,3 *		100
ДФИ-иодид, 20 мг/кг в твине-80	6,7 ± 0,3 *		100
Интактные	6,3 ± 0,2		100
Контроль (тиомочевина, 100 мг/кг + ДМСО)	12,0 ± 1,9		100
Контроль (раствор ДМСО)	11,2 ± 2,1		100
ДФИ-иодид, 1 мг/кг в ДМСО	8,1 ± 1,3		100
ДФИ-иодид, 2,5 мг/кг в ДМСО	16,5 ± 2,1		100
ДФИ-иодид, 5 мг/кг в ДМСО	10,2 ± 1,8		100
ДФИ-иодид, 7,5 мг/кг в ДМСО	6,6 ± 0,4 *		100
ДФИ-иодид, 10 мг/кг в ДМСО	9,2 ± 1,6		100

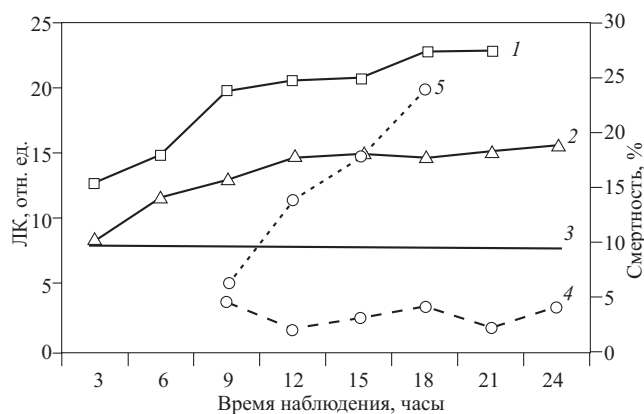
(табл. 2). При этом ДФИ-хлорид в дозе 10 мг/кг, ДФИ-ацетат в дозах 5 и 10 мг/кг и ДФИ-сульфат в дозах 10 и 20 мг/кг полностью предупреждают развитие отека легких у крыс, предотвращая тем самым гибель отравленных животных. Результаты исследования эффективности ДФИ-иодида представлены в табл. 3. Испытывали широкий спектр доз препарата от 1/40 LD<sub>50</sub> до 1,5 LD<sub>50</sub>. Опыты показали, что эффективным является профилактическое введение ДФИ-иодида в ДМСО в дозе 7,5 мг/кг и ДФИ-иодида в твине-80 в до-

зах 10 и 20 мг/кг. Препарат в таких дозах полностью предупреждал развитие отека легких у крыс. Гибели отравленных животных в данном опыте не наблюдалось, поэтому установить характер действия препарата на данный важнейший показатель не удалось.

Следующим этапом работы являлась оценка эффективности солей дифенилиодидия на модели ТОЛ, вызванного фосгеном. При этом использовали ДФИ-иодид, суспензированный в твине-80, в широком диапазоне доз. Испытания препарата при отравлении

Таблица 4. Профилактическая эффективность ДФИ-иодида при токсическом отеке легких у мышей и крыс, вызванном ингаляцией фосгена

Вещество, доза (мг/кг)	Легочный коэффициент (отн. ед.)		Выживаемость, %
	3 ч	24 ч	
Интактные мыши	6,2 ± 0,2	6,6 ± 0,5	100
Контроль (фосген LCt <sub>99</sub> + дист. вода)	11,9 ± 0,6	26,9 ± 1,2	0
ДФИ-иодид, 0,1 мг/кг	12,4 ± 1,0	23,4 ± 1,4	20
ДФИ-иодид, 1 мг/кг	12,1 ± 1,0	21,3 ± 1,2	60
ДФИ-иодид, 5 мг/кг	12,5 ± 1,1	25,0 ± 1,5	0
ДФИ-иодид, 10 мг/кг	12,7 ± 0,6	15,3 ± 1,4 *	80*
ДФИ-иодид, 20 мг/кг	12,3 ± 0,9	15,4 ± 1,2 *	80*
Интактные крысы	6,4 ± 0,2	6,1 ± 0,1	100
Контроль (фосген LCt <sub>99</sub> + дист. вода)	9,5 ± 0,6	14,7 ± 1,7	0
ДФИ-иодид, 5 мг/кг	8,8 ± 0,4	22,2 ± 4,7	0
ДФИ-иодид, 10 мг/кг	8,6 ± 0,5	18,0 ± 3,1	75
ДФИ-иодид, 20 мг/кг	9,3 ± 1,8	9,8 ± 0,9	0
ДФИ-иодид, 30 мг/кг	7,02 ± 0,48 *	8,4 ± 0,6	0



Динамика легочного коэффициента и летальности мышей, отравленных фосгеном в дозе 4,8 мг · мин/л. ЛК — легочный коэффициент, ДФИ — дифенилиодиний, СМ — смертность, проф. — профилактическое использование. 1 — ЛК отравленные, 2 — ЛК проф. ДФИ, 3 — ЛК интактные, 4 — СМ проф. ДФИ, 5 — СМ отравленные.

мышей фосгеном продемонстрировали эффективность ДФИ-иодида в дозах 10 и 20 мг/кг, а при отравлении фосгеном крыс эффективной оказалась доза 30 мг/кг (табл. 4). При этом эффективные дозы препарата снижали выраженность отека легких через 24 ч эксперимента и выживаемость отравленных животных. При отравлении фосгеном крыс эффективность препарата проявлялась только через 3 ч эксперимента и выражалась уменьшением отека легких через 3 ч эксперимента и отсутствием влияния на выживаемость экспериментальных животных.

В отдельном эксперименте сравнивали эффективность профилактического и лечебного применения ДФИ-иодида. Препарат, растворенный в ДМСО, вводили в фиксированной дозе 30 мг/кг крысам за 30 мин до или через 10 мин после отравления фосгеном. Было установлено, что только профилактическое введение ДФИ-иодида позволяет предотвратить развитие отека легких у экспериментальных животных (табл. 5).

Проводили изучение длительности протекторного действия ДФИ-иодида при однократном внутривенном введении в дозе 7 мг/кг за 30–40 мин до отравления мышей фосгеном (LC<sub>50</sub>). В эксперименте участвовали параллельно две группы мышей: опытные (получившие инъекцию препарата) и контрольные (получившие инъекцию физиологического раствора). Длительность наблюдения составляла 24 ч. Оценивали легочный коэффициент и выживаемость животных. Установлено, что развитие ТОЛ у мышей после применения фосгена в токсодозе, близкой к LC<sub>50</sub>, уже через 9–12 ч достигает значительной, близкой к максимальной, степени (тяжести состояния). Предварительное введение препарата в значительной мере предотвращает развитие легочного отека на протяжении всего эксперимента. На ранних сроках

Таблица 5. Эффективность профилактического и лечебного применения ДФИ-иодида при токсическом отеке легких, вызванном фосгеном у крыс

Вещество, доза (мг/кг)	Легочный коэффициент (отн. ед.), 3 ч
Интактные	6,2 ± 0,4
Контроль (фосген LC <sub>50</sub> + ДМСО)	12,3 ± 1,6
ДМСО-контроль, профилактика	9,3 ± 1,1
ДМСО-контроль, лечение	10,2 ± 1,8
ДФИ-иодид в ДМСО, 30 мг/кг, профилактика	7,0 ± 0,5*
ДФИ-иодид в ДМСО, 30 мг/кг, лечение	9,1 ± 0,5

эксперимента (до 3 ч) данный эффект выражен наиболее ярко. После однократного введения ДФИ-иодида в течение 24 ч легочный коэффициент у животных лечебной группы был достоверно ниже, чем в контрольной. Смертность среди животных опытной группы была также ниже, чем среди контрольных особей. Установлено также, что ДФИ-иодид проявляет профилактическую эффективность на протяжении 24 ч. Данная профилактическая эффективность не меняется при использовании в качестве растворителя ДМСО или эмульгатора твин-80.

## ВЫВОДЫ

1. Соли дифенилиодиния (хлорид, сульфат, ацетат, иодид) при профилактическом применении обладают высокой противоотечной активностью при токсическом отеке легких, вызванным тиомочевинной или фосгеном.
2. Профилактическое применение дифенилиодиния при токсическом отеке легких более эффективно, чем лечебное.
3. Длительность противоотечного действия дифенилиодиния иодида превышает 24 ч.
4. Эффективная доза дифенилиодиния при токсическом отеке легких соответствует 1/2 – 1/5 LD<sub>50</sub>.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Е. В. Гублер, А. А. Генкин, *Применение критериев непараметрической статистики в медико-биологических исследованиях*, Ленинград (1965), сс. 1 – 59.
2. В. В. Марышева, П. Д. Шабанов, П. А. Торкунов, Патент РФ № 2281950, *Бюл. изобр.*, № 23 от 20.08.2006.
3. В. В. Марышева, П. Д. Шабанов, П. А. Торкунов, Патент РФ № 2281951, *Бюл. изобр.*, № 23 от 20.08.2006.
4. В. В. Марышева, П. А. Торкунов, П. Д. Шабанов, *Бюл. экпер. биол.*, **141**(4), 418 – 422 (2006).
5. П. А. Мотавкин, Б. И. Гельцер, *Клиническая и экспериментальная патофизиология легких*, Москва (1998), сс. 1 – 366.
6. Л. Р. Одыванова, А. А. Сосунов, Я. Гагчев, Д. Ж. Цервос-Наварро, *Усп. совр. биол.*, **117**(3), 374 – 389 (1997).
7. П. А. Торкунов, А. В. Земляной, П. Д. Шабанов, *Психофармакол. и биол. наркол.*, **7**(1), 1458 – 1463 (2007).

8. П. А. Торкунов, В. В. Марышева, М. Б. Варлашова и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **65**(4), 51 – 55 (2002).
9. П. А. Торкунов, Н. Н. Плужников, А. А. Тяптин и др., *Вопр. мед. хим.*, **46**(6), 564 – 573 (2000).
10. П. А. Торкунов, Н. Н. Плужников, А. А. Тяптин и др., *Вопр. мед. хим.*, **50**(1), 57 – 63 (2004).
11. V. V. Marysheva, P. A. Torkunov, and P. D. Shabanov, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **141**(4), 433 – 436 (2006). SpringerLink: DOI 10.1007 / s10517 – 006 – 0192 – 2.
12. P. A. Torkounov, A. Zemlyanoy, Yu. Lupachyov, et al., *Adv. Exp. Med. Biol.*, 483, 627 – 630 (2000).

Поступила 20.06.07

## ANTIEDEMATOUS EFFECT OF DIPHENYLIODINIUM SALTS ON EXPERIMENTAL TOXIC LUNG EDEMA

P. A. Torkunov, A. V. Zemlyanoi, and P. D. Shabanov

Department of Pharmacology, St. Petersburg State Military Medical Academy, ul. Lebedeva 6,  
St. Petersburg, 194044 Russia  
e-mail: shabanov@mail.rcom.ru

A series of diphenyliodinium (DPI) salts (chloride, sulfate, acetate and iodide) were synthesized and studied as preventive and therapeutic agents in the model toxic lung edema induced by thiourea and phosgene in rats. All DPI salts exhibited high antiedematous activity. The preventive action of drugs was more effective than their curative effect. The duration of the antiedematous action of DPI iodide exceeded 24 h. The effective dose of DPI salts in the toxic lung edema was within 0.2 – 0.5 LD<sub>50</sub>.