

На правах рукописи

ДЖАМШЕДОВ ДЖАМШЕД НАЗАРДОДОВИЧ

**ТОКСИКОФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
2-БРОМ-7-МЕТИЛ-5-ОКСО-5Н-1,3,4-ТИАДИАЗОЛО-
[3,2-А] ПИРИМИДИНА**

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Джамшед', is centered on a light blue rectangular background.

Душанбе – 2012

Работа выполнена в лаборатории фармакологии Института химии им. В.И. Никитина Академии наук Республики Таджикистан и лаборатории болезней птиц Института ветеринарии Таджикской академии сельскохозяйственных наук.

Научные руководители: доктор медицинских наук, профессор
Рахимов Исматулло Фатхуллаевич;
доктор ветеринарных наук
Салимов Тоджиддин Мухиддинович

Официальные оппоненты: доктор химических наук,
профессор кафедры органической
и биологической химии Таджикского
государственного педагогического
университета им. С. Айни,
член-корреспондент Академии образо-
вания РТ
Бобиев Гуломкодир Мукамолевич;
доктор медицинских наук, профессор
кафедры биохимии Таджикского госу-
дарственного медицинского универси-
тета им. Абуали ибн Сино
Сабурова Анна Мухамедовна

Ведущая организация: Научно исследовательский институт
питания Министерства энергетики
и промышленности Республики Та-
джикистан

Защита диссертации состоится « 8» мая 2012 г. в 13.⁰⁰ часов на заседа-
нии диссертационного совета КМ.047.003.01 при Институте химии им. В.И.
Никитина АН РТ по адресу: 734063, Душанбе, ул. Айни, 299/2. Сайт института:
www.chemistry.tj.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института химии АН
РТ по адресу: 734063, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2.

Автореферат разослан: «08» апреля 2012 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук



И.Ф. Рахимов

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Многообразное воздействие на организм производных пиримидинов, объясняется в основном, их влиянием на синтез нуклеотидов, так как они являются составной частью нуклеиновых кислот (И.Л. Крылов, 2005; K. Aruna et al., 2004; V. Kovaieva et al., 2004, 2005; Zhangelal, 2004).

При образовании пиримидиновых нуклеотидов в тканях животных происходит полное формирование свободного пиримидина (оротовой кислоты), затем образуется рибонуклеотид – оротидинмонофосфат – общий предшественник всех пиримидиновых нуклеотидов, которые кроме основных путей синтеза могут образовываться также из свободных пиримидинов и нуклеозидов по так называемым запасным метаболическим путям. Биологическая роль пиримидиновых нуклеидов многообразна, но, прежде всего, связана с биосинтезом различных биополимеров и клеточных элементов, выполняющих разнообразные и сложные функции: нуклеиновые кислоты, полисахариды, белковоуглеродные комплексы, разнообразные сложные липиды, сложные белки (Mainntoactal, 2001; Doganetal, 2002; Vergneetal, 2004).

Эксперименты по выяснению фармакологических свойств производных пиримидина показали, что кроме способности стимулировать лейкопоз и эритропоз, пиримидины обладают способностью стимулировать репаративные процессы, оказывать противовоспалительное действие, вызывать анаболический и антикатаболический эффект, а также повышать фагоцитоз, резистентность к инфекции, поствакцинальный иммунитет. В организме, находящемся в состоянии иммуносупрессии, пиримидины проявляют наибольшую активность. Кроме специфического иммунного ответа, пиримидины активизируют и факторы неспецифической антиинфекционной резистентности – лизоцим, комплемент, пропердин, лейконы (K. Aruna et al., 2004; Zhangelal, 2004; V. Kovaieva et al., 2004, 2005; И.Л. Крылов, 2005; Shippselal, 2005; S. Schcnonc, et al., 2006).

Были установлены два механизма действия пиримидинов – прямой, при их непосредственном влиянии на клетки, и опосредованный – через активацию эндокринной системы путем повышения продукции эндогенных кортикостероидов. Способность пиримидинов потенцировать действие антибиотиков, в какой-то степени ослаблять побочные действия гормонов, радиационного облучения, является особенно важной. В медицинской практике пиримидины применяют также для стимуляции поствакцинального иммунитета у детей с целью профилактики гриппа совместно с интерфероном. Пиримидины активны при введении внутрь. Производные пиримидина – малотоксичные соединения.

Фармакокинетика пиримидиновых соединений изучена недостаточно. Имеются лишь сведения относительно метилурацила, который уже через час после введения достигает максимальной концентрации во многих органах: в сердце, надпочечниках, селезенке, печени. Большое содержание метилурацила в головном мозге свидетельствует о его способности проникать через гематоэнцефалический барьер и непосредственно влиять на центральную нервную систему. Пиримидины благодаря разностороннему фармакологическому действию на организм, находят широкое применение в медицине (С.С. Сатторов и

др., 2002; М.А. Куканиев и др., 2004; V. Kovaieva et al., 2004, 2005; Zhangelal, 2004; И.Л. Крылов, 2005; Shippselal, 2005).

Целью исследования является фармакологический скрининг 2-бром-7-метил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина.

Основные задачи исследования. В соответствии с поставленной целью нами предусматривалось решение следующих задач:

1. Изучить антимикробную активность соединения в отношении наиболее распространенных возбудителей болезней сельскохозяйственных птиц. Определить чувствительность эпизоотических изолятов, выделенных от сельскохозяйственных птиц.

2. Установить параметры острой токсичности соединения на лабораторных животных и цыплятах.

3. Изучить хроническую токсичность и влияние соединения на морфологические и биохимические показатели крови. Оценить функциональное состояние печени после введения соединения.

4. Изучить кумулятивные свойства соединения.

5. Изучить эмбриотоксическое и тератогенное свойства соединения.

6. Исследовать фармакокинетику соединения.

7. Определить сроки выведения остаточных количеств соединения из организма сельскохозяйственной птицы.

Научная новизна и практическая значимость работы. Впервые исследовано бактериостатическое и бактерицидное действия соединения в отношении эпизоотических изолятов *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella pullorum*, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, выделенных от сельскохозяйственной птицы, где установлено, что исследуемое соединение имеет выраженную антимикробную активность.

Определены параметры острой токсичности соединения для лабораторных животных и цыплят, и их хроническую токсичность. Выявлено, что продолжительное введение соединения не вызывает нарушений обмена веществ, гемопоэза и лейкопоэза цыплят. Морфологические нарушения в органах животных (печени, сердце, почках, селезенке) не отмечены. Длительное введение соединения не вызывает признаков токсического проявления и сдвигов в обменных процессах.

При введении белым мышам, исследуемое соединение в дозе 1/10 ЛД₅₀ не имеет кумулятивных свойств, не вызывает функциональных изменений в печени. В дозах 1/10 и 3/10 ЛД₅₀ соединение не оказывает тератогенного и эмбриотоксического действия.

Концентрация соединения в сыворотке крови, в скелетной мускулатуре и в сердечной мышце, достигает максимального значения через 6 ч, легких – 8 ч и постепенно снижается, оставаясь через 12 ч на уровне минимальной бактерицидной концентрации для изученных микроорганизмов (*St. aureus*, *Str. pyogenes*, *E. coli*, *Pr. vulgaris*, *S. enteritidis*, *S. pullorum*, *P. multocida*, *Ps. aeruginosa*, *Kl. pneumoniae*). Наиболее высокие концентрации соединения обнаруживаются через 6 ч в почках и через 8 ч в печени, высокое содержание со-

единения в которых сохраняется до 12 ч, что свидетельствует об их участии в его выведении. Содержание соединения в крови и внутренних органах начинает снижаться через 12 ч.

В органах и тканях цыплят через сутки после последнего введения соединение было обнаружено в количестве от 0,09 до 5,12 мкг/г, через 3 сут следы соединения установлены только в печени и почках.

На основе анализа биологической активности выявлено, что 2-бром-7-метил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидин проявляет широкий спектр антимикробной активности и может быть предложен для углубленных исследований как перспективное лекарственное средство. Низкая токсичность и высокая противомикробная активность данного соединения позволяют разработать лекарственные формы нового высокоэффективного химиотерапевтического средства.

Синтезированные препараты обладают широким спектром антибактериальной активности, проявляют противогрибковую активность и являются малотоксичными в отношении экспериментальных животных.

Положения, выносимые на защиту:

1. Впервые определена чувствительность эпизоотических изолятов, выделенных от сельскохозяйственных птиц к соединению и изучение его антимикробной активности в отношении наиболее распространенных возбудителей болезней сельскохозяйственных птиц.

2. Определены параметры токсичности исследуемого соединения на лабораторных животных и цыплятах.

3. Определить хроническую токсичность и влияние соединения на морфологические и биохимические показатели крови, уровень естественной резистентности птицы.

4. Определить кумулятивные свойства исследуемого соединения и изучение функционального состояния печени при введении соединения белым мышам.

5. Изучить эмбриотоксическую и тератогенные свойства соединения.

6. Определить фармакокинетику соединения.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены на Всероссийском съезде ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии» (Санкт-Петербург, 2009), VI Нумановских чтениях (Душанбе, 2009), IV Международной научно-практической конференции «Перспективы развития науки и образования» (Душанбе, 2010), Республиканской научной конференции «Химия: исследование, преподавание, технология» (Душанбе, 2010).

Публикации. По результатам исследований опубликовано 18 научных работ.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 110 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, главы, посвященной данным собственных экспериментальных наблюдений, обсуждения полученных результатов, выводов и списка использованной литературы, содержащего 203 источников, из ко-

торых 97 на иностранных языках. Работа иллюстрирована 10 таблицами и 15 рисунками.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в лаборатории фармакологии Института химии им. В.И. Никитина Академии наук Республики Таджикистан и лаборатории болезней птиц Института ветеринарии Таджикской академии сельскохозяйственных наук в 2007 – 2011 гг.

Объектом фармакологических исследований явился 2-бром-7-метил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидин, который был синтезирован из 2-амино-5-бром-1,3,4-тиадиазола и ацетоуксусного эфира в среде полифосфорной кислоты (рис. 1).

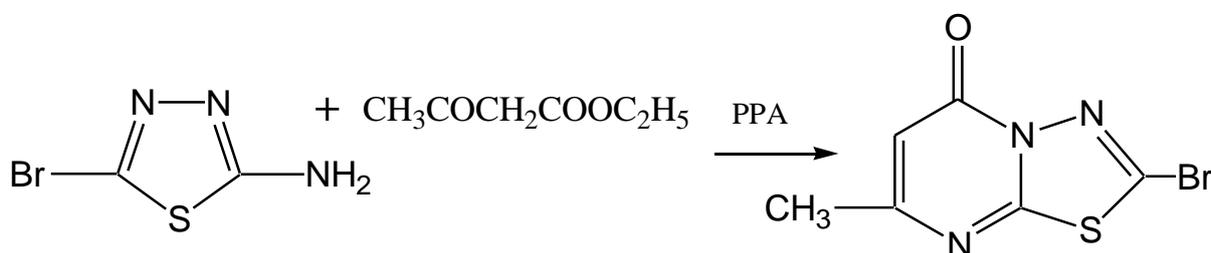


Рис. 1. Синтез 2-бром-7-метил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиа-диазоло[3,2-а]пиримидин.

С хорошим выходом 2-бром-7-метил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиа-диазоло[3,2-а]пиримидин синтезирован путём взаимодействия 2-амино-5-бром-1,3,4-тиадиазола с ацетоуксусным эфиром в среде ПФК. Реакция протекала при температуре 95 – 100°С в течение 3 – 4 часов. При разбавлении реакционной среды ледяной водой продукт реакции выпадал в осадок.

Выход конечного продукта в данной реакции достигает 80%. Соединение хорошо растворяется в большинстве органических растворителей.

Исследуемое соединение представляет собой кристаллический порошок бело-жёлтого цвета, хорошо растворимый в воде и органических растворителях.

Эксперименты проведены на 630 белых мышах обоего пола (масса тела 18 – 20 г) 180 белых беспородных крысах обоего пола (масса тела – 180 – 220 г), 525 цыплятах 60 дневные (масса тала – 545 – 550 г) и 120-дневного возраста (масса тела – 1,2 кг). Все животные содержались в виварии на обычном лабораторном рационе. Опыты проводились с соблюдением Правил проведения работ на экспериментальных животных (приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР №755 от 12.08.1977 г.) и согласовывались с требованиями по гуманному обращению с животными (IACUC, 1994).

Методом серийных разведений в мясопептонном бульоне (МПБ) изучили **противомикробную активность** соединения в отношении 137 эпизоотических

изолятов *St. aureus*, *Str. pyogenes*, *E. coli*, *Pr. vulgaris*, *S. enteritidis*, *S. pullorum*, *P. multocida*, *Ps. aeruginosa*, *Kl. pneumoniae*.

Острая токсичность соединения изучена в опытах на белых мышах (масса тела – 18 – 20 г, 6 групп, n=10) и 60-дневных цыплятах (масса тела – 545 – 550 г, 6 групп, n=10). Соединение вводили белым мышам однократно, внутрибрюшинно в объеме 0,2 мл в дозах 250 мг/кг массы тела (1-я группа), 500 (2-я), 750 (3-я), 1000 (4-я), 1250 мг/кг массы тела (5-я); перорально в объеме 2 мл в тех же дозах – цыплятам. В соответствующих объемах и дозах контрольным животным и цыплятам вводили сахарозу.

После определения максимально переносимой дозы (МПД) – гибели животных и цыплят не наблюдается, и дозы, вызывающей гибель всех животных и цыплят, бывших в опыте (ЛД₁₀₀), рассчитывали ЛД₅₀, математически обрабатывая полученные результаты по методу Г.Н. Першина.

Хроническая токсичность изучена в опытах по скармливанию испытуемого соединения в течение 23 суток трем группам (n=10) белых крыс обоего пола массой тела – 180 – 220 гр. и трем группам (n=10) 120-дневных цыплят (масса тела – 1,2 кг) в дозах 65, 130 и 195 мг/кг массы тела исследуемого соединения. В контрольных группах животные и птица испытуемое соединение не получали.

Подсчет количества **эритроцитов** крови проводили по общепринятой методике, используя счетную камеру с сеткой Горяева.

Подсчет **лейкоцитов** проводили по методике А.А. Кудрявцева и Л.А. Кудрявцевой (1974).

Содержание **гемоглобина** определяли общепринятым методом с помощью гемометра Сали.

Общий белок в сыворотке крови определяли рефрактометрическим методом Рейса.

Уровень естественной резистентности исследовали согласно «Рекомендации по определению показателей естественной резистентности птиц».

На 30 белых мышах (масса тела – 18 – 20 г) и 10 цыплятах 60-дневного возраста (масса тела – 545 – 550 г) по методу Лима (И.В. Саноцкий и др., 1975) в течение 28 дней исследованы **кумулятивные свойства** соединения.

Функциональное состояние печени у белых мышей (масса тела – 18 – 20 г; 9 групп по 10 гол.: 6 подопытных и 3 контрольные группы) исследуемого соединения определяли по методике Д.Р. Рогозина (М.Л. Беленький, 1969). Соединение в дозе равной 1/10 ЛД₅₀ (65 мг/кг массы тела) натошак перорально вводили половине подопытных животных, а в дозе равной 1/5 ЛД₅₀ (130 мг/кг массы тела) – второй половине и через 1, 3 и 6 ч внутрибрюшинно вводили гексенал в дозе 60 мг/кг массы тела.

Эмбриотоксическое и тератогенное действия изучали в опытах на белых крысах (60 самок, масса тела – 200 – 210 г) в половозрелом, неонатальном и постнатальном периодах (по методике А.П. Шицковой с соавт., 1977). Животных с первого дня беременности разделяли на три группы (n=20), двум из которых (подопытные) для определения эмбриотоксического действия скармливали в смеси с кормом исследуемое соединение в дозах 65 и 195 мг/кг массы

тела в течение 17 – 18 дней, а для определения тератогенного действия – до конца беременности (21 – 23 дня). Крысы контрольной группы исследуемое вещество не получали. При ежедневном наблюдении за животными учитывали клиническое состояние, аппетит, поведение.

По 10 крыс из каждой группы забиты методом декапитации на 19-й день беременности. На вскрытии учитывали количество желтых тел беременности, мест имплантации живых и мертвых эмбрионов. Доимплантационную, постимплантационную и общую эмбриональную смертность рассчитывали общепринятым методом.

От оставшихся в группах крыс получено потомство, за которым наблюдали в течение одного месяца после рождения, учитывая прирост массы тела, рост, обрастание шерстным покровом, подвижность, активность высасывания молока матери.

Фармакокинетику соединения изучали на 50 цыплятах 60-дневного возраста с массой тела 545 – 550 г. Экспериментальная птица не получала корм и воду в течение часа до начала эксперимента и 2 ч после введения исследуемого соединения, которое вводили перорально однократно через зонд в зоб в дозе 65 мг/кг массы тела. По 5 цыплят забивали через 0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 12; 18 и 24 ч после введения соединения, содержание которого определяли в сыворотке крови, скелетной и сердечной мышцах, легких, печени и почках.

Определение наличия соединения в биосубстратах проводили микробиологическим методом диффузии в агар с тест культурой *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Чувствительность метода – 0,025 – 0,05 мкг/г или мкг/мл.

Определение сроков выведения остаточных количеств соединения из организма после применения проводили на 15 цыплятах 60-дневного возраста с массой тела – 545 – 550 г, которым ежедневно в течение 6 сут вводили через зонд испытуемое соединение в дозе 65 мг/кг массы тела 2 раза в день. Через 1, 3 и 5 суток после последнего введения соединения забивали по 5 цыплят и проводили исследования мышечной ткани, сердца, легких, почек, печени, мышечного слоя желудка, крови на наличие действующего вещества, определение которого в биосубстратах проводили микробиологическим методом с тест-микробом *Bac. subtilis* ATCC 6633.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Антимикробная активность

2-бром-7-метил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина

Антимикробная активность исследуемого соединения изучена в отношении 137 эпизоотических изолятов *St. aureus* (20 – 14,6%), *St. pyogenes* (13 – 9,5%), *E. coli* (37 – 27%), *Pr. vulgaris* (11 – 8%), *S. enteritidis* (11 – 8%), *S. pullorum* (14 – 10,2%), *P. multocida* (16 – 11,7%), *Ps. aeruginosa* (10 – 7,3%), *Kl. pneumoniae* (5 – 3,7%).

МБсК соединения для *St. aureus* и *Str. pyogenes* находилась в пределах от 0,31 до 1,24 мкг/мл (соответственно 80 и 84,6% изолятов – 0,31 мкг/мл; по 10 и 7,7% – 0,62 и 1,24 мкг/мл), МБцК для этих микроорганизмов – 0,62 – 2,48 мкг/мл (соответственно 75 и 76,9% изолятов – 0,62 мкг/мл; 10 и 15,4% – 1,24; 15 и 7,7% – 2,48 мкг/мл).

Для *E. coli* МБсК соединения составила 0,31 – 4,96 мкг/мл (0,31 мкг/мл – 67,6% изолятов; 0,62 и 1,24 – по 13,5%; 2,48 и 4,96 мкг/мл – по 2,7%), а МБцК – 2,48 – 9,92 мкг/мл (2,48 мкг/мл – 73% изолятов; 4,96 – 24,3%; 9,92 мкг/мл – 2,7%).

Pr. vulgaris и *S. enteritidis* были чувствительны к соединению в концентрациях 0,62 – 2,48 мкг/мл (соответственно 81,8 и 72,7% изолятов – 0,62 мкг/мл; 9,1 и 18,2% – 1,24 мкг/мл; по 9,1% – 2,48 мкг/мл).

Испытуемое соединение подавляло рост этих культур в концентрациях 1,24 – 4,96 мкг/мл (1,24 мкг/мл – соответственно 81,8 и 72,7% изолятов; 2,48 – по 9,1%; 4,96 мкг/мл – 9,1 и 18,2%).

Бактериостатическое действие исследуемого соединения в отношении *S. pullorum* отмечали в концентрациях от 1,24 до 4,96 мкг/мл (78,6% изолятов – 1,24 мкг/мл; 14,3% – 2,48; 7,1% – 4,96 мкг/мл), а минимальная подавляющая концентрация находилась в пределах 2,48 – 9,92 мкг/мл (2,48 мкг/мл – 78,6% изолятов; 4,96 – 14,3%, 9,92 мкг/мл – 7,1%).

МБсК соединения для *P. multocida* составила 0,31 – 1,24 мкг/мл (81,3% изолятов – 0,31 мкг/мл; 6,2% – 0,62; 12,5% – 1,24 мкг/мл). Рост этой культуры соединения подавляло в концентрациях 0,62 – 2,48 мкг/мл (0,62 мкг/мл – 68,8% изолятов; 1,24 – 12,4%; 2,48 мкг/мл – 18,8%).

Для *Ps. aeruginosa* МБсК соединения находилась в пределах 1,24 – 4,96 мкг/мл (60% изолятов – 1,24 мкг/мл; по 20% – 2,48 и 4,96 мкг/мл). Концентрации от 2,48 до 9,92 мкг/мл были подавляющими для этого микроорганизма (2,48 и 4,96 мкг/мл – по 40% изолятов, 9,92 мкг/мл – 20%).

Действие соединения в отношении *Kl. pneumoniae* было бактериостатическим в концентрациях 1,24 – 4,96 мкг/мл (60% изолятов – 1,24 мкг/мл; по 20% – 2,48 и 4,96 мкг/мл). Бактерицидность соединения проявлялась в концентрациях 2,48 – 9,92 мкг/мл (2,48 и 4,96 мкг/мл – по 40%; 9,92 мкг/мл – 20%).

Таким образом, бактериостатическое действие испытуемого соединения в отношении исследованных изолятов *St. aureus*, *Str. pyogenes*, *E. coli*, *Pr. vulgaris*, *S. enteritidis*, *S. pullorum*, *P. multocida*, *Ps. aeruginosa*, *Kl. pneumoniae* наблюдали в концентрациях от 0,31 до 4,96 мкг/мл (0,31 мкг/мл – 47,4% изолятов; 0,62 – 23,4%; 1,24 – 21,2%; 2,48 – 5,8%, 4,96 мкг/мл – 2,2%), а бактерицидная концентрация составила 0,62 – 9,92 мкг/мл (26,3% изолятов – 0,62 мкг/мл; 21,2% – 1,24; 36,5% – 2,48; 13,9% – 4,96, 2,1% – 9,92 мкг/мл). Резистентных изолятов не было, что свидетельствует о перспективности изготовления на основе соединения антимикробных препаратов.

3.2. Токсикологические свойства

2-бром-7-метил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина

3.2.1. Острая токсичность

По принципу парных аналогов из белых мышей (масса тела – 18 – 20 г, n=10) и 60-дневных цыплят (масса тела – 545 – 550 г, n=10) сформировали по шесть групп для определения острой токсичности исследуемого соединения, которое вводили белым мышам однократно внутрибрюшинно в объеме 0,2 мл в дозах 250 мг/кг массы тела (1-я группа), 500 (2-я), 750 (3-я), 1000 (4-я), 1250

мг/кг массы тела (5-я), а цыплятам – перорально в объеме 2 мл в тех же дозах. В соответствующих объемах и дозах контрольным животным и цыплятам вводили сахарозу.

Летальный исход и характер клинической картины являлись критериями оценки токсичности.

Параметры острой токсичности соединения для лабораторных животных и цыплят: ЛД₁₀₀ – 1250, ЛД₅₀ – 650 и 750 мг/кг массы тела соответственно.

3.2.2. Хроническая токсичность

В течение 23 сут трем группам (n=10) белых мышей (масса тела 18 – 20 г) и трем группам (n=10) 120-дневных цыплят (масса тела – 1,2 кг) в дозах 65, 130 и 195 мг/кг массы тела вводили испытуемое соединение для определения опасности повторного применения, степени выведения при длительном применении. Животные и птица контрольных групп соединение не получали.

При изучении хронической токсичности соединения установлено, что у подопытных и контрольных белых мышей поведение, аппетит, прием воды, состояние слизистых оболочек и шерстного покрова не отличались.

Существенных изменений при введении соединения не отмечали и в состоянии птиц, которые активно двигались и хорошо поедали корм.

Влияние различных доз (65, 130, 195 мг/кг массы тела) соединения на организм птиц изучили на 5, 10, 23 дни с учетом динамики массы тела, коэффициента роста, гемолитических, биохимических показателей и уровня естественной резистентности.

Введение в течение 23 сут соединения не вызывает статистически достоверных нарушений обмена веществ, гемопоэза и лейкопоэза цыплят. В органах (печени, сердце, почках, селезенке) не отмечены морфологические нарушения. Птицы подопытных групп нормально развивались и прибавляли в массе.

Следовательно, ежедневное введение в течение 23 дней соединения не вызывает признаков токсикоза и сдвигов в обмене веществ.

3.2.3. Кумулятивные свойства

Кумулятивные свойства соединения исследованы на 30 белых мышях (масса тела – 18 – 20 г) и 10 цыплятах 60-дневного возраста (масса тела – 545 – 550 г) по методу Лима, в соответствии с которым каждые 4 дня доза соединения увеличивается на 50%, что позволяет в течение 28 дней проследить реакцию лабораторных животных и птиц на введение от 0,1 до 1,12 ЛД₅₀.

При определении кумулятивных свойств соединения в опытах на цыплятах установлено, что при дозе 0,15 от ЛД₅₀ (на 8 сут) начинается гибель птицы и при суммарной дозе 1425 мг/кг массы тела (на 12 сут) погибают все цыплята (табл. 1). Рассчитано, что при многократном введении для цыплят ЛД₅₀ соединения составляет 975 мг/кг массы тела.

Таблица 1

Результаты изучения кумулятивных свойств соединения

| Период введения, сут | Доза, мг/кг массы тела | | | | | | Кол-во павших животных, гол. | |
|----------------------|------------------------|-------|----------------------|------|-------------------------|------|------------------------------|----|
| | ежедневная | | суммарная | | | | | |
| | | | по периодам введения | | за весь период введения | | | |
| б.м. | ц. | б.м. | ц. | б.м. | ц. | б.м. | ц. | |
| 1 – 4 | 65 | 75 | 260 | 300 | 260 | 300 | – | – |
| 5 – 8 | 97,5 | 112,5 | 390 | 450 | 650 | 750 | – | 2 |
| 9 – 12 | 143 | 165 | 585 | 675 | 1235 | 1425 | – | 10 |
| 13 – 16 | 221 | | 910 | | 2145 | | – | |
| 17 – 20 | 325 | | 1300 | | 3445 | | – | |
| 21 – 24 | 487,5 | | 1950 | | 5395 | | 3 | |
| 25 – 28 | 728 | | 2925 | | 8320 | | 4 | |

Примечание: б.м. – белые мыши, ц. – цыплята.

Отношение ЛД₅₀ соединения при многократном введении к ЛД₅₀ при однократном введении 1,3, что свидетельствует об отсутствии выраженных кумулятивных свойств соединения для цыплят.

3.2.4. Функциональное состояние печени после однократного введения соединения белым мышам

Гепатоксическое действие соединения исследовали по методике Д.Р. Рогозина (Беленький М.Л., 1969). 90 белых мышей (масса тела – 18 – 20 г) разделили на группы (n=10): 6 групп – подопытные и 3 группы – контрольные. Половине подопытных животных натошак перорально вводили соединение в дозе равной 1/10 ЛД₅₀ (65 мг/кг массы тела), а второй половине – 1/5 ЛД₅₀ (130 мг/кг массы тела) и через 1, 3 и 6 ч вводили гексенал внутривентриально в дозе 60 мг/кг массы тела. Продолжительность гексеналового наркоза учитывали с момента принятия мышами бокового положения до первых попыток его изменить. Контрольным животным вводили физиологический раствор в дозе 1 мл / гол..

Продолжительность гексеналового сна при введении соединения в дозе 1/10 ЛД₅₀ (65 мг/кг массы тела), хотя несколько и снижается, но достоверно не отличается (P>0,05) от продолжительности сна в контрольной группе (табл. 2).

Таблица 2

Результаты гексеналовой пробы на белых мышах

| Время введения гексенала | | Средняя продолжительность сна, мин | | |
|--------------------------|---|------------------------------------|----------------------|----------|
| | | 1/10 ЛД ₅₀ | 1/5 ЛД ₅₀ | Контроль |
| Через, ч | 1 | 27,5±2,4 | 27,2±4,3 | 28,6±4,1 |
| | 3 | 25,1±2,1 | 82,7±16,6 | 26,9±3,2 |
| | 6 | 27,8±6,3 | 18,7±5,4 | 28,1±3,9 |

Через час продолжительность гексеналового сна при увеличении дозы соединения до 1/5 ЛД₅₀ (130 мг/кг массы тела) составила 27,2±4,3 мин, что достоверно не отличается (P>0,05) от соответствующего показателя в контрольной группе. Увеличение продолжительности гексеналового сна отмечено через 3 ч после введения соединения (82,7±16,6 мин), уменьшение длительности гексеналового наркоза до 18,7±5,4 мин наблюдали через 6 ч, что достоверно отличается (P<0,05) от соответствующего показателя в контрольной группе.

Таким образом, в дозе 1/5 ЛД₅₀ соединение вызывает непродолжительное угнетение функции печени, восстанавливающееся через 6 ч после введения. Функциональных изменений в печени соединение не вызывает в дозе 1/10 ЛД₅₀.

3.2.5. Эмбриотоксическое и тератогенное свойства

По методике А.П. Шицковой с соавт. (1977) в опытах на белых крысах (масса тела – 200 – 210 г) в половозрелом, неонатальном и постнатальном периодах изучили эмбриотоксическое и тератогенное действия соединения.

С первого дня беременности животных разделили на три группы (n=20). Крысам двух подопытных групп для определения эмбриотоксического действия соединения скармливали в смеси с кормом в дозах 65 и 195 мг/кг массы тела в течение 17 – 18 дней, для определения тератогенного действия – до конца беременности (21 – 23 дня). Животные контрольной группы соединения не получали.

В экспериментальных и контрольных группах беременность проходила без каких-либо отклонений. После вскрытия подопытных и контрольных беременных крыс оценка эмбрионального материала, статистическая обработка полученных данных показали отсутствие каких-либо аномалий при онтогенезе плодов (табл. 3).

Таблица 3

Эмбриотоксическое действие соединения

| Показатель | | Доза, мг/кг массы тела | | Контроль |
|-----------------------------|---------------------|---------------------------|-----------|-----------|
| | | 65 | 195 | |
| Кол-во на одну самку | желтых тел | 11,4±0,5 | 11,3±0,4 | 11,6±0,4 |
| | мест имплантации | 10,2±0,6 | 9,4±0,1 | 11,2±0,2 |
| | живых эмбрионов | 9,8±0,5 | 9,4±0,5 | 9,6±0,8 |
| | мертвых эмбрионов | 1,0±0,3 | 1,0±0,6 | 1,1±0,4 |
| Смертность, % | общая эмбриональная | 13,1±0,4 | 11,5±0,6 | 12,8±0,5 |
| | постимплантационная | 9,3±0,8 | 9,9±0,4 | 8,7±0,3 |
| | доимплантационная | 4,6±0,7 | 3,8±0,4 | 5,2±0,6 |
| Выживаемость, % | | 86,2±10,1 | 87,8±10,6 | 88,7±11,1 |

На процессы овуляции и эмбриогенеза, продолжительность беременности исследуемое соединение в дозах 65 и 195 мг/кг массы тела существенно не ока-

зывает отрицательного влияния. Не обнаружено уродств, аномалий развития внутренних органов и скелета эмбрионов (табл. 4).

Таблица 4

Тератогенное действие соединения

| Показатель | | Доза, мг/кг массы тела | | Контроль |
|--|-----------------------------|------------------------|--------------|--------------|
| | | 65 | 195 | |
| Средний (яя) | вес крысенка, мг | 6011,1±140,7 | 5922,9±130,3 | 5899,2±233,9 |
| | длина туловища крысенка, мм | 47,6±0,5 | 46,4±0,9 | 47,9±0,7 |
| | масса плаценты, мг | 301,4±38,1 | 307,1±25,3 | 309,7±29,9 |
| Уродства, аномалии развития внутренних органов и скелета | | нет | нет | нет |

Соединение в дозах 65 и 195 мг/кг массы тела не оказывает тератогенного и эмбриотоксического действия на эмбрионы в процессе онтогенеза и в постнатальный период роста и развития крысят.

3.3. Фармакологические свойства

2-бром-7-метил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина

3.3.1. Фармакокинетика

Фармакокинетическую изучаемого соединения (содержание в крови, скелетных мышцах, сердце, легких, печени и почках) изучали на 50 цыплятах 60-дневного возраста (масса тела – 545 – 550 г), которым вводили перорально однократно через зонд в зоб в дозе 65 мг/кг массы тела. Через 0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 12; 18 и 24 ч после введения исследуемого соединения забивали по 5 цыплят.

Установлено, что соединение при пероральном введении хорошо резорбировалось в органы и ткани цыплят. После применения соединения через 1 ч во всех органах и тканях его содержание достигает уровня минимальной бактерицидной концентрации (табл. 5).

Таблица 5

Фармакокинетика соединения при пероральном введении птицам в дозе 65 мг/кг массы тела

| Час | Содержание в 1 мл или 1 г, мкг | | | | | |
|-----|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|
| | Сыворотка крови | Мышцы | Сердце | Легкие | Печень | Почки |
| 0,5 | 0,68±0,10 | 0,73±0,12 | 0,71±0,08 | 0,58±0,16 | 1,94±0,11 | 3,72±0,21 |
| 1 | 5,09±0,64 | 5,67±0,84 | 6,91±0,71 | 5,76±0,54 | 8,22±0,62 | 11,86±1,27 |
| 2 | 6,04±0,87 | 7,20±0,78 | 7,25±0,96 | 6,91±0,79 | 9,82±1,42 | 12,28±1,23 |
| 4 | 8,72±1,35 | 7,90±0,84 | 8,50±0,79 | 9,70±1,34 | 10,70±1,12 | 14,96±1,27 |

| | | | | | | |
|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| 6 | 9,98±1,11 | 9,63±1,09 | 9,90±1,17 | 10,83±1,23 | 12,91±1,62 | 18,34±2,22 |
| 8 | 8,60±1,12 | 9,55±1,10 | 9,74±1,18 | 11,71±1,21 | 13,63±1,13 | 14,47±1,16 |
| 12 | 4,31±0,75 | 5,30±0,48 | 6,54±0,93 | 7,40±0,89 | 8,58±0,78 | 11,79±1,10 |
| 18 | 2,28±0,07 | 3,16±0,08 | 3,32±0,10 | 4,10±0,18 | 6,54±0,67 | 8,43±1,13 |
| 24 | 0,11±0,03 | 2,12±0,01 | 1,24±0,03 | 3,18±0,02 | 4,23±0,25 | 5,20±0,34 |

Через час после введения концентрация в крови соединения составляла $5,09 \pm 0,64$ мкг/мл, через 6 ч – $9,98 \pm 1,11$, через 12 ч – $4,31 \pm 0,75$, через 24 ч – $0,11 \pm 0,03$ мкг/мл (рис. 2).

В мышечной ткани исследуемое соединение проявлялось через 0,5 ч после введения. Концентрация его была равна $0,73 \pm 0,12$ мкг/г. Через 6 ч уровень содержания достигал $9,63 \pm 1,09$, через 12 ч уровень снижался до $5,30 \pm 0,48$, а через сутки до $2,12 \pm 0,01$ мкг/г (рис. 2).

Через час после введения уровень соединения в сердечной мышце цыплят был равен $6,91 \pm 0,71$ мкг/г. Наибольшую концентрацию соединения ($9,90 \pm 1,17$ мкг/г) наблюдали через 6 ч. Через 12 ч содержание соединения составляло $6,54 \pm 0,93$, через 24 ч – $1,24 \pm 0,03$ мкг/г (рис. 3).

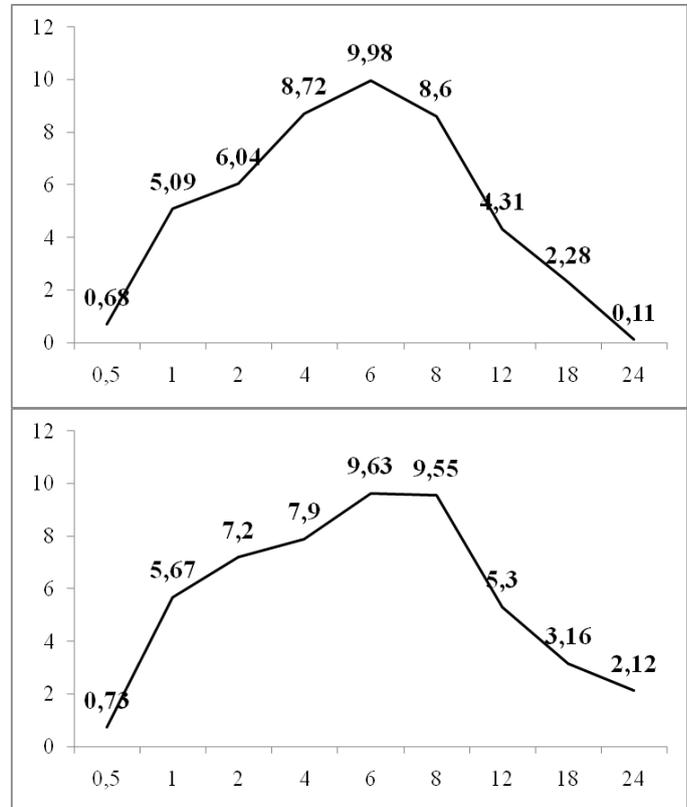


Рис. 2. Динамика концентрации соединения в сыворотке крови (сверху), мкг/мл, и мышечной ткани (снизу), мкг/г.

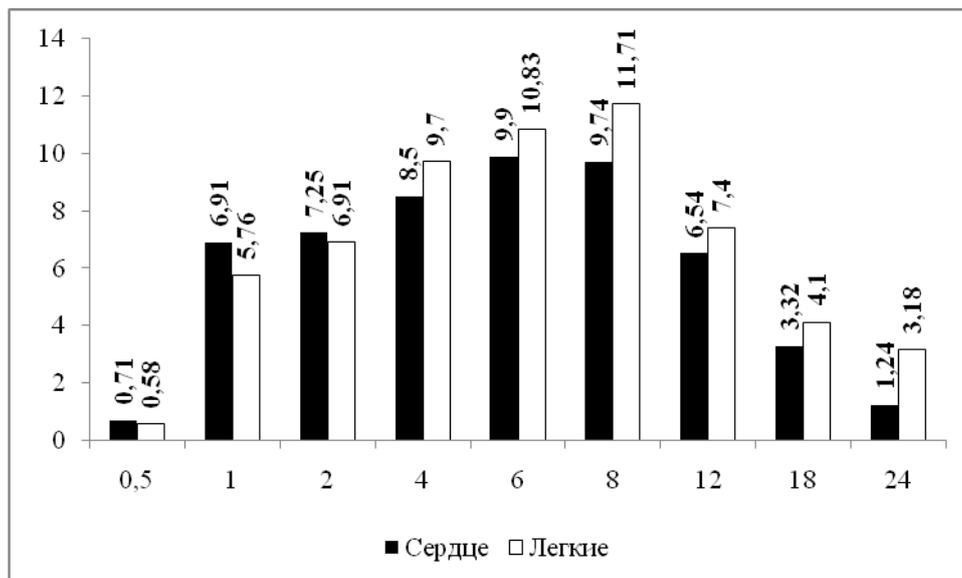


Рис. 3. Динамика уровня соединения в сердце и легких, мкг / мг.

В легких концентрация соединения через час после введения достигала $5,76 \pm 0,54$ мкг/г. Наибольшее содержание соединения ($11,71 \pm 1,21$ мкг/г) наблюдали через 8 ч. Через 12 ч после введения концентрация исследуемого соединения составляла $7,40 \pm 0,89$, через 24 ч – $3,18 \pm 0,02$ мкг/г (рис. 3).

Уровень соединения в печени был наиболее высоким через 8 ч ($13,63 \pm 1,13$ мкг/г). Затем концентрация уменьшалась: через 12 ч – до $8,58 \pm 0,78$, через 24 ч – до $4,23 \pm 0,25$ мкг/г (рис. 4).

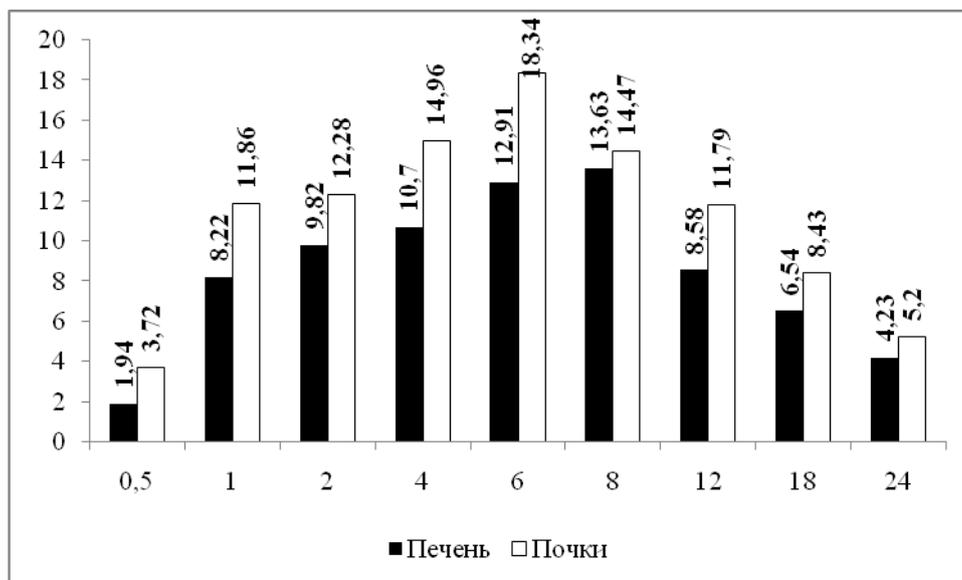


Рис. 4. Динамика уровня соединения в печени и почках, мкг / мг.

В почках наблюдали наибольший из всех исследуемых органов уровень соединения. Через час после введения концентрация его составляла $11,86 \pm 1,27$ мкг/г. Пик увеличения содержания в почках соединения наблюдали через 6 ч ($18,34 \pm 2,22$ мкг/г). Через 12 ч уровень соединения снижался до $11,79 \pm 1,10$, а через 24 ч – $5,20 \pm 0,34$ мкг/г (рис. 4).

Максимального значения концентрация соединения в сыворотке крови, мышцах и сердце достигала через 6 ч, легких – 8 ч и постепенно снижалась, оставаясь через 12 ч на уровне минимальной подавляющей концентрации для многих микроорганизмов. Наиболее высокие концентрации соединения обнаруживали в почках (через 6 ч) и печени (через 8 ч), причем высокое содержание соединения в этих органах держится на протяжении 12 ч, что свидетельствует об их участии в выведении соединения. Содержание данного соединения в крови и внутренних органах начинает снижаться через 12 ч.

Таким образом, установлено, что минимальная бактерицидная концентрация соединения в организме птицы в течение суток достигается двукратным его введением в дозе 65 мг/кг массы тела.

3.3.2. Сроки выведения остаточных количеств соединения из организма птицы

Для определения сроков выведения остаточных количеств нашего соединения из организма, после ежедневного применения его 15 цыплятам 60-дневного возраста (масса тела – 545 – 550 г) в течение 6 сут в дозе 65 мг/кг массы тела 2 раза в день. Через 1, 3 и 5 сут после последнего введения соединения убивали по 5 цыплят и проводили исследования (микробиологическим методом с тест-микробом *Bac. subtilis* АТСС 6633) мышечной ткани, сердца, легких, почек, печени, мышечного слоя желудка, крови на наличие соединения.

Через сутки после последнего введения соединение было обнаружено в количестве от 0,09 до 5,12 мкг/г во всех исследованных образцах. Через 3 сут следовые количества соединения были установлены только в печени и почках.

Следовательно, через 5 сут после введения соединение полностью выводится из организма.

ВЫВОДЫ

1. В отношении исследованных изолятов *St. aureus*, *Str. pyogenes*, *E. coli*, *Pr. vulgaris*, *S. enteritidis*, *S. pullorum*, *P. multocida*, *Ps. aeruginosa*, *Kl. pneumoniae* бактериостатическое действие соединения отмечали в концентрациях от 0,31 до 4,96 мкг/мл, а бактерицидная концентрация составила 0,62 – 9,92 мкг/мл.

2. Определены параметры острой токсичности соединения для лабораторных животных и цыплят, ЛД₁₀₀ – 1250, ЛД₅₀ – 650 и 750 мг/кг массы тела.

3. Продолжительное введение (23 сут) соединения не вызывает статистически достоверных нарушений обмена веществ, гемопоэза и лейкопоэза цыплят. Морфологические нарушения в основных органах (печени, сердце, почках, селезенке) не отмечены. Введение соединения в течение 23 дней не вызывает токсических проявлений.

4. Соединение не обладает кумулятивными свойствами. В дозах 65мг/кг (1/10 ЛД₅₀) и 195 мг/кг массы тела (3/10 ЛД₅₀) исследуемое соединение не оказывает тератогенного и эмбриотоксического действия на эмбрионы в процессе онтогенеза и в постнатальный период роста и развития крыс.

5. Концентрация соединения в сыворотке крови, мышцах и сердце достигает максимального значения через 6-8 ч, и постепенно снижается, оставаясь через 12 ч на уровне минимальной бактерицидной концентрации. Содержание соединения в крови и внутренних органах начинает снижаться через 12 ч.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Антимикробная активность 1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина / Т.М. Салимов, З.Г. Сангов, З.Д. Ашурова, Дж.Н. Джамshedов, М.А. Куканиев, М.Д. Ашурова, С.С. Саторов, К.Х. Хайдаров // Здоровоохранение Таджикистана. – 2009. – №3, приложение 1. – С. 173 – 176.

2. Влияние некоторых производных 1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидинов на каталазную активность *Escherichia coli* / З.Д. Ашурова, З.Г. Сангов, М. Мурватуллоева, Т.М. Салимов, М.А. Куканиев, Дж.Н. Джамshedов // Матер. VI Нумановских чтений (29 – 30 мая 2009 г.). – Душанбе, 2009. – С. 61 – 62.

3. Определение влияния некоторых производных 1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидинов на каталазную активность *Escherichia coli* / З.Д. Ашурова, З.Г.

Сангов, М. Мурватуллоева, З.Д. Холикова, Дж.Н. Джамshedов, Т.М. Салимов, М.А. Куканиев // Докл. АН РТ. – 2009. – Т. 52, №3. – С. 204 – 206.

4. Определение влияния некоторых производных 1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидинов на каталазную активность *Escherichia coli* / З.Д. Ашурова, З.Г. Сангов, М.С. Мурватуллоева, Т.М. Салимов, М.А. Куканиев // Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии: матер. Всерос. съезда. вет. фармакологов и токсикологов. – СПб., 2009. – С. 9 – 11.

5. Синтез на основе 6-фторо-2-гидразин-7-метил-1,3,4-тиадиозоло[3,2-а]пиримидин-5-ОН / М.А. Куканиев, З.Г. Сангов, Джафари Бехзод, З.Д. Ашурова, Дж.Н. Джамshedов // Докл. АН РТ. – 2009. – Т. 52, №5. – С. 372 – 376.

6. Фармакокинетика соединений 1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина / З.Г. Сангов, З.Д. Ашурова, Т.М. Салимов, Дж.Н. Джамshedов, Б.Б. Лакаев, М.А. Куканиев, С.С. Саторов, К.Х. Хайдаров // Здравоохранение Таджикистана. – 2009. – №3, приложение 1. – С. 177 – 182.

7. Взаимодействие лекарственных веществ в процессе выведения из организма / З.Д. Ашурова, З.Г. Сангов, Дж.Н. Джамshedов, М.Д. Ашурова, З.Д. Холикова, С. Мирзоев, Т.М. Салимов, М.А. Куканиев // Перспективы развития науки и образования: матер. IV Междунар. науч.-практ. конф. – Душанбе, 2010. – С. 228 – 230.

8. Изучение фармакокинетики соединений 1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина / З.Г. Сангов, З.Д. Ашурова, Дж.Н. Джамshedов, Б. Лакаев, Т.М. Салимов, М.А. Куканиев, С.С. Саторов // Здравоохранение Таджикистана. – 2010. – №1. – С. 27 – 31.

9. Оценка функционального состояния печени после однократного введения производных 1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина белым мышам / Дж.Н. Джамshedов, З.Г. Сангов, Саид Вали Султан, Т.М. Салимов, З.Д. Ашурова, М.А. Куканиев // Здравоохранение Таджикистана. – 2010. – №3. – С. 17 – 19.

10. Синтез 6-фторо-7-метил-2-(5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидин-2-илсульфид)-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидин-5-она / М.А. Куканиев, З.Г. Сангов, Джафари Бехзод, З.Д. Ашурова, Дж.Н. Джамshedов // Перспективы развития науки и образования: матер. IV Междунар. науч.-практ. конф. – Душанбе, 2010. – С. 232 – 233.

11. Синтез 6-фторо-7-метил-2-(7-метил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидин-2-илсульфид)-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина-5-она / М.А. Куканиев, Саид Вали Султан, З.Г. Сангов, Джафари Бехзод, З.Д. Ашурова, Дж.Н. Джамshedов // Докл. АН РТ. – 2010. – Т. 53, №2. – С. 122 – 125.

12. Синтез на основе 6-фторо-2-(5-меркапто-1,3,4-тиадиазол-2-илсульфид)-7-метил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина / Джафари Бехзод, Саид Вали Султан, З.Г. Сангов, З.Д. Ашурова, Д.Н. Джамshedов, М.А. Куканиев // Химия: исследования, преподавание, технология: матер. Республ. науч. конф., посвящ. «Году образования и технических знаний». – Душанбе, 2010. – С. 35 – 36.

13. Синтез производных 2-R-5-имино-7-оксо-7Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина / Д.М. Осимов, Саид Вали Султан, З.А. Сангов, Д.Н. Джамshedов,

З.Д. Ашурова, М.А. Куканиев // Докл. АН РТ. – 2010. – Т. 53, №4. – С. 285 – 289.

14. Фармакокинетика конденсированных производных 1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина / З.Д. Ашурова, З.Г. Сангов, Дж.Н. Джамshedов, М.Д. Ашурова, Т.М. Салимов, М.А. Куканиев, С.С. Саторов // Здравоохранение Таджикистана. – 2010. – №2. – С. 16 – 20.

15. Химия и микробиология фторпроизводных 1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидинов / М.А. Куканиев, З.Д. Ашурова, З.Г. Сангов, Дж.Н. Джамshedов, Саид Вали Султан, К.Х. Хайдаров, С.С. Саторов // Современные аспекты краевой инфекционной патологии в Таджикистане: матер. науч.-практ. конф. сотрудников ТНИИПМ, посвящ. «Году образования и технических знаний». – Здравоохранение Таджикистана. – 2010. – Приложение №2. – С. 146 – 151.

16. Изучение токсического действия мази 2-бром-6-фтор-7-метил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина / З.Д. Ашурова, З.Г. Сангов, Дж.Н. Джамshedов, М.А. Куканиев, А.Н. Махмадshоев, Т.М. Салимов // Ветеринарная медицина. – 2011. – №2. – С. 50 – 51.

17. Синтез и антимикробная активность N-(6-Х-7-метил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидин-2-ил)диазо-18-краун-6 / З.Г. Сангов, З.Д. Ашурова, З.Д. Холикова, М.А. Куканиев, Т.М. Салимов, Дж.Н. Джамshedов // Хим.-фарм. журн. – 2011. – Т. 45, №9. – С. 100 – 101.

18. Изучение токсичности 2-бром-6-фтор-7-метил-5-оксо-5Н-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидина / З.Д. Ашурова, З.Г. Сангов, И.Ф. Рахимов, М.А. Куканиев, Т.М. Салимов, Дж.Н. Джамshedов // Ветеринарная медицина. – 2011. – №1. – С. 56 – 57.

Типография РТСУ

Подписано к печати 22.02.2012г. формат 60/84 1/16

Бумага офсетная 80г/м² объём 1,5 п.л. Тираж 100. Заказ № 10