

Новая технология оценки канцерогенной опасности нитрозоаминов

Нехорошев А.С., д.м.н., профессор кафедры профилактической медицины ФПК ГОУВПО СПбГМА им. И.И. Мечникова Росздрава, г. Санкт-Петербург **Захаров А.П.**, к.т.н., доцент кафедры санитарно-гигиенических лабораторных исследований ФПК ГОУВПО СПбГМА им. И.И. Мечникова Росздрава, г. Санкт-Петербург **Гайко И.И.**, к.м.н., начальник территориального отдела управления Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу в Приморском, Петроградском, Курортном, Кронштадтском районах, г. Санкт-Петербург **Ежов А.В.**, заместитель начальника территориального отдела управления Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу в Приморском, Петроградском, Курортном, Кронштадтском районах, г. Санкт-Петербург

New technology of assessment for carcinogenic risk of nitrosamines

Nekhoroshev A.S., Zakharov A.P., Gaiko I.I., Ezhov A.V.

Резюме

Целью исследования являлась разработка технологии оценки канцерогенной опасности N-нитрозоаминов в объектах санитарно-эпидемиологического надзора. Предложенная технология оценки опасности N-нитрозоаминов в различных объектах среды обитания, основанная на определении комплексообразующей способности методом обращенной газовой хроматографии и гидрофильно-липофильного баланса физико-химическими методами, позволяет прогнозировать риск канцерогенной заболеваемости.

Ключевые слова: канцерогенная опасность, газовая хроматография, гидрофобно-липофильный баланс, физико-химические методы

Summary

The aim of the study was to develop technology assessment for carcinogenic risks of N-nitrosamines in the objects of sanitary and epidemiological surveillance. The proposed technology of risk assessment for N-nitrosamines, in various environment objects based on the determination of complexing ability by inverse gas chromatography and hydrophilic-lipophilic balance of physical and chemical methods, allows predicting risk of carcinogenic incidence.

Key words: carcinogenic risks, gas chromatography, hydrophilic-lipophilic balance, physical and chemical methods

Источники образования N-нитрозоаминов в окружающей среде многообразны, но в производстве пластмасс, бумаги, ядохимикатов, красителей, лекарственных препаратов, пищевой промышленности они являются важнейшими токсикантами, определение канцерогенной опасности которых осуществляется малодоступными методами вследствие отсутствия модели канцерогенной активности химических факторов данного класса органических соединений. В субмикронцентрациях N-нитрозоамины содержатся как в объектах среды обитания, так и в организме человека в результате эндогенного синтеза. Предполагается, что механизм канцерогенного действия N-нитрозоаминов состоит в гидроксилировании с

участием цитохрома P-450, при этом образуется в результате деалкилирования алкилдиазогидроксила. Эта модель сходна с биохимическим процессом дезаминирования аминокислот азотистой кислотой с образованием спиртов и последующим их метаболизмом, в основе которого лежит распад кислоты на нитрозил и гидроксил-радикал. Ранее в опытах на животных показана возможность канцерогенного действия при однократном поступлении N-нитрозоаминов, однако латентный период длится до 30 лет, что снижает доказательность причин образования опухоли.

Цель работы состояла в разработке новой технологии оценки канцерогенной опасности N-нитрозоаминов в объектах среды обитания.

Для определения хроматографических параметров токсичности было синтезировано 18 нитроазотсодержащих соединений (N-НС), относящихся к классам N-нитроэдиалкил-, N-нитроэстероциклических аминов и N-нитроэамидов по методикам, приведенным в журнале физической химии [1]. Для этих канцерогенных препаратов методом обращенной газовой

Ответственный за ведение переписки -

Нехорошев Александр Сергеевич,

191095, г. Санкт-Петербург,

ул. Маяковского б. кп. б,

E-mail: nekhoroshev@list.ru

хроматографии определены значения хроматографических параметров удерживания компонентов тест-системы и рассчитаны разность свободных энергий сорбции бензена и н-гексана, характеризующие комплексобразующую способность N-НС по величине $\lg V_{\text{benz}}/V_{\text{c6}}$. Абсорбция определяется разностью межмолекулярных сил взаимодействия компонентов раствора (гомоассоциация) и сольватов (гетероассоциация). Для оценки окислительно-восстановительных свойств N-НС снимали вольтамперную кривую в интервале $-1,3 - -1,5$ В на полярографе ППТ-1 в режиме переменного-токовой полярографии на ртутном каплющем электроде, поскольку нитрогруппа значительно меньше способна к анодному окислению в соответствии с уравнением $-\text{NO} + \text{H}_2\text{O} - 2e^- \rightarrow -\text{NO}_2 + 2\text{H}^+$. Восстановление группы $-\text{N}-\text{NO}$ в диапазоне потенциалов от $-1,3$ до $-1,5$ В, позволяет получить гидразинный фрагмент $-\text{N}-\text{NH}_2$.

Модель распределения, трансформации (метаболизма) поступающих в организм веществ является предметом рассмотрения токсикокинетики, в то же время термодинамические модели имеют, по нашему мнению, не меньшие перспективы. В качестве такой модели можно рассматривать совокупность таких физико-химических свойств N-НС, как комплексобразующая способность ($\lg V_{\text{benz}}/V_{\text{c6}}$) и логарифм константы распределения в системе октанол-вода ($\lg P$), характеризующий транспорт вещества через поверхности раздела фаз в гетерогенных системах. В качестве опорных соединений для оценки канцерогенного действия были выбраны N-нитрозодиметиламин и N-нитрозодиптиламин, которые, с одной стороны, наиболее широко представлены как продукты азотистого обмена в печени, а с другой – обладают различным гидрофильно-липофильным балансом. На данном этапе исследования нас интересовал не механизм протекания процессов дезаминирования, а выявление и оценка метаболитов нитрозирования как прекурсоров к соединениям с канцерогенной активностью. Исследование зависимости пероральной летальной дозы (белые линии крысы) N-метилалкилнитрозаминов от числа СН-связей, полученной в виде $\lg \text{ЛД50} = 0,096n + 1,197$, по сравнению с диалкилнитрозаминами показало, что водорастворимый N-диметилнитрозамин имеет большую токсичность, а N-диптилнитрозамин – меньшую, по сравнению с прогнозируемой. В то же время гидрофобность ($\lg P$) N-метилалкилнитрозаминов от числа СН-связей (n) превосходно характеризуется линейным уравнением $\lg P = 0,253n - 2,031$ без отклонений для вышеуказанных соединений. Исследование зависимости пероральной летальной дозы N-диалкилнитрозаминов (N-ДАН) от числа СН-связей ($\lg \text{ЛД50} = 0,099n + 1,209$ с коэффициентом корреляции $r = 0,93$) выявило, что токсичность N-ДАН превосходно описывается полиномом второй степени $\lg \text{ЛД50} = -0,0052n^2 + 0,244n + 0,361$, что можно объяснить окислением алкильного радикала и обра-

зованием карбонильной группы. Это явление аналогично для острой пероральной токсичности алифатических кетонов, карбонильных аналогов нитрогруппы, зависимость которых от комплексобразующей способности выражена уравнением $\lg \text{ЛД50} = -1,783 \lg V_{\text{benz}}/V_{\text{c6}} + 4,708$, что обусловлено большей гидрофильностью карбонильных соединений [3]. Увеличение гидрофильности метаболитов N-ДАН *in vivo* не изменяет характер зависимости их токсичности от параметра гидрофобности *in vitro*, которая представлена уравнением $\lg \text{ЛД50} = -0,299 \lg P + 1,067$ и зависимости токсичности от комплексобразующей способности *in vitro* в форме уравнения $\lg \text{ЛД50} = -1,665 \lg V_{\text{benz}}/V_{\text{c6}} + 3,770$ с $r = 0,96$. Однако, превосходная корреляция последней зависимости обеспечивается полиномом $\lg \text{ЛД50} = -1,255 (\lg V_{\text{benz}}/V_{\text{c6}})^2 + 0,293 \lg V_{\text{benz}}/V_{\text{c6}} + 3,111$. Для выявления взаимосвязи между комплексобразующей способностью и гидрофильно-липофильным балансом *in vitro* для всей выборки N-НС получена следующая зависимость $\lg V_{\text{benz}}/V_{\text{c6}} = -0,240 \lg P + 1,182$ с $r = 0,90$. Наибольшие отклонения от линейной зависимости были получены для водорастворимых N-НС, что связано с процессами гидролитического расщепления одинарной связи $=\text{N}-\text{N}=\text{O}$ и образованием биогенных аминов, которые могут оказывать карциногенное воздействие. В тоже время для жирорастворимых N-НС важно рассмотреть их окислительно-восстановительные свойства, так как их кумуляция может привести к инициированию канцерогенного эффекта. N-нитрогруппы в N-НС трансформировали до нитрогрупп жестким окислением с потенциалом $1,78$ В $90\% \text{H}_2\text{O}_2$ в кислой среде, а восстановление фрагмента $-\text{N}-\text{NO}$ проводили в диапазоне потенциалов от $-1,3$ до $-1,5$ В, позволяющего получить гидразинный фрагмент $-\text{N}-\text{NH}_2$. При этом комплексобразующая способность N-нитропроизводных уменьшалась по сравнению с N-нитрозаминами, а гидрофильность возрастала. Восстановление N-НС с образованием алифатических гидразинов в пределах неопределенности измерений не изменяет ни $\lg V_{\text{benz}}/V_{\text{c6}}$, ни ЛД50, и подтверждает выводы, сделанные в [4], что их токсичность не зависит от пути поступления в организм. Анализ зависимости острой пероральной токсичности от комплексобразующей способности N-НС показал, что антибатная корреляция наблюдается для водорастворимых нитропроизводных $\lg \text{ЛД50} = +2,620 \lg V_{\text{benz}}/V_{\text{c6}} + 0,084$ с $r = 0,96$ и липофильных $-\lg \text{ЛД50} = -1,184 \lg V_{\text{benz}}/V_{\text{c6}} + 3,50$ с $r = 0,99$. Исходя из изложенного, можно рассмотреть модель канцерогенного действия липофильных N-НС, в которой образующейся при восстановлении донорами водорода флавиин- или никотин-адениндинуклеотидом гидразинный фрагмент взаимодействует с пиридоксальфосфатом с образованием прочного основания Шиффа, не гидролизующегося водой, которое нарушает нормальное течение процесса трансаминирования аминокислот и может инициировать начало образования опухо-

лей. Это согласуется с данными [4] о преимущественном образовании опухолей молочной железы для липофильных N-НС и опухолей в печени и почках для водорастворимых соединений.

Таким образом, предложенная технология оценки опасности N-нитрозоаминов, включая новый порог-образователь полимерных материалов – нитрозопро-

пилоинос 1,3,5,7-тетраза-бицикло[3,3,1.]нонана, в различных объектах среды обитания, основанная на определении комплексообразующей способности методом обращенной газовой хроматографии и гидрофильно-липофильного баланса физико-химическими методами, позволяет прогнозировать риск канцерогенной заболеваемости. ■

Литература:

1. Захаров А.П., Гайле А.А., Проскуров В.А. Селективность насыщенных азотсодержащих гетероциклических соединений по отношению к углеводородным системам. Журнал физической химии. 1977; 51(8): 2073-5.
2. Нехорошев А.С., Захаров А.П., Скворцова Е.А. и др. Проблемы оценки неспецифической токсичности многокомпонентной смеси алифатических кетонов в медицине труда. Материалы XXXXIII научной конференции "Чрезвычайные ситуации: Организационные, эколого-гигиенические и эпидемиологические проблемы. Хлопинские чтения". СПб., 2010: 191-5.
3. Бенеманский В.В., Катульский Ю.Н. Канцерогенное действие N-нитрозосоединений при интратрахеальном и пероральном путях поступления. Химическая безопасность Российской Федерации в современных условиях: Сб. трудов Всеросс. НПК СПб.: Фолиант, 2010: 176.