Влияние вида солеобразующих кислот на противолучевую активность аналогов T1023 – солей N-изобутаноил-S-изопропилизотиомочевины

М.В. Филимонова, А.С. Сабурова, Л.И. Шевченко, В.М. Макачук, А.А. Лычагин, А.С. Филимонов

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Россия

Обширный арсенал противолучевых средств, имеющийся на сегодняшний день в мире, по мнению ведущих специалистов, далеко не в полной мере отвечает современным практическим потребностям как в области обеспечения противолучевой защиты, так и в области профилактики и лечения осложнений лучевой терапии. Целью работы являлось экспериментальное исследование влияния вида солеобразующих кислот на противолучевую активность химических аналогов ингибитора NOS T1023. Химическая часть работы включала методы химического синтеза, физико-химический и элементный анализ, фармакологическая часть – оценку острой токсичности экспресс-методом по В.Б. Прозоровскому и изучение противолучевой активности по методу Тилла и МакКаллока по числу эндогенных гемопоэтических селезеночных колоний на 8-е сутки после тотального гамма-облучения в дозе 6 Гр в 6 независимых экспериментах. В результате направленного химического синтеза наработано, идентифицировано и охарактеризовано 6 новых соединений, аналогов T1023 – солей N-изобутаноил-S-изопропилизотиомочевины. Результаты изучения безопасности и противолучевой активности синтезированных соединений свидетельствуют, что изменение солеобразующей кислоты значительно не изменяет токсические характеристики: все они относятся к 3 классу токсичности и опасности. Вместе с тем, замена солеобразующей кислоты существенно влияла на характер и выраженность противолучевого действия. Выделено два перспективных соединения, противолучевая эффективность которых сопоставима либо превосходит исходное соединение T1023 в области меньших, относительно безопасных доз. Полученные данные свидетельствуют о перспективности дальнейшей разработки ингибиторов NOS – производных изотиомочевины в качестве противолучевых средств.

Ключевые слова: противолучевая эффективность, острая токсичность, гемопоэтические селезеночные колонии, ингибиторы синтаз оксида азота.

Введение

В связи с развитием атомной энергетики, широким применением радиологических методов лечения и диагностики, распространением ядерного оружия и возрастающими угрозами терроризма проблемы обеспечения радиационной безопасности и эффективной противолучевой защиты вошли в число приоритетных для всего мирового сообщества [1–3]. Важную роль в решении этой комплексной проблемы играет разработка эффективных и безопасных фармакологических противолучевых средств.

На сегодняшний день известно значительное число соединений различных химических классов, снижающих при профилактическом применении частоту и тяжесть острых радиационных поражений [1, 4]. Но практически все разрешенные к медицинскому применению противолучевые средства имеют серьезные побочные эффекты и часто эффективны только в субтоксических для человека дозах, что существенно ограничивает их широкое приме-

нение и стимулирует поиск новых более безопасных соединений [5]. Ориентиром в поиске новых противолучевых средств служит так называемый «идеальный радиопротектор», который должен отвечать перечню требований: защищать организм при остром и хроническом лучевом воздействии; быть высокоэффективным; приемлемым для перорального введения; химически стабильным; не иметь выраженных токсических эффектов. [6, 7].

Обширный объем экспериментальных данных о биологической роли оксида азота (NO) в различных физиологических и патологических процессах стал основанием для развития новых подходов к созданию лекарственных средств. Так, показано, что ингибиторы NO синтаз (NOS) в той или иной степени способны сдерживать рост опухоли и процессы метастазирования; а кроме того, повышать радиорезистентность тканей и организма в целом [8–10].

Наиболее эффективный на сегодня ингибитор NOS – вазоактивный радиопротектор T1023, разработанный в лаборатории радиационной фармаколо-

Филимонова Марина Владимировна

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес для переписки: 249036, Россия, Калужская область, г. Обнинск, ул. Королёва, д. 4; E-mail: mari_fil@mail.ru

гии Медицинского радиологического научного центра (МРНЦ) им. А.Ф. Цыба, обеспечивает при относительно безопасных дозах (1/5–1/4 ЛД₅₀) выраженную профилактику костномозговой и энтеральной форм острой лучевой болезни, не уступая в эффективности известным противолучевым средствам различных классов [11, 12].

Вместе с тем, мировой опыт разработки лекарственных средств свидетельствует, что и безопасность, и специфическая фармакологическая активность соединения могут определяться не только химическим строением его каркаса, но и структурными особенностями всей молекулы, в частности – видом заместителей и солеобразующих кислот или оснований, входящих в его состав. Влияние таких структурных факторов на различные виды фармакологической активности ингибиторов NOS в настоящее время остается неисследованным. В этой связи для разработки оптимального прототипа лекарственного средства на основе N-изобутаноил-S-изопропилизотиомочевина нами проведено сравнительное исследование безопасности и противолучевой эффективности его солей.

Цель исследования – экспериментальное изучение влияния вида солеобразующих кислот на противолучевую активность химических аналогов ингибитора NOS – соединения T1023.

Задачи исследования

1. Направленный синтез химических аналогов соединения T1023 – его солей с различными кислотами.
2. Сравнительное изучение острой токсичности и противолучевой активности новых синтезированных производных T1023 – солей N-изобутаноил-S-изопропилизотиомочевина.

Материалы и методы

Исследуемые соединения

Для проведения исследований в лаборатории радиационной фармакологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба были разработаны методы синтеза и осуществлена разработка исходного соединения T1023 и его производных – солей N-изобутаноил-S-изопропилизотиомочевина с хлористоводородной (T1080), йодистоводородной (T1091), фосфорной (T1082), фосфористой (T1095), оксиэтилендифосфоновой (T1096), малеиновой (T1100) кислотами. Структуру новых соединений подтверждали методами физико-химического и элементного анализа. Контроль чистоты соединений осуществляли методом тонкослойной хроматографии на пластинках Silufol UV-254 (Чехия) в системе бензол-этанол-триэтиламин 9:1:0,1. Спектры ПМР получены в DMSO-d₆ на спектрометре DRX-500 (Bruker, Германия) при частоте 500 Гц с тетраметилсиланом в качестве стандарта. Температуру плавления определяли на приборе ПТП (Лаборприбор, РФ). Для всех экспериментальных исследований *in vivo* соединения готовили *ex tempore* в асептических условиях. В качестве растворителя использовали 0,9% раствор натрия хлорида (Дальхимфарм, РФ).

Лабораторные животные

Исследования выполнены на 56 аутбредных мышам-самцах и 1394 мышам-самцах линии F1(CBAxH57Bl/6j)

в возрасте 2–2,5 месяцев. Животные содержались в виварии МРНЦ им. А.Ф. Цыба в клетках Т-4 в условиях естественного освещения помещения при температуре 18–20°C и относительной влажности воздуха 40–70% на подстилке из простерилизованных древесных стружек, со свободным доступом к питьевой воде и брикетированному корму.

Острая токсичность

Оценку острой токсичности новых соединений проводили в соответствии с Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств экспресс-методом по В.Б. Прозоровскому [13, 14]. Рабочие растворы изготавливали перед введением на основе 0,9% асептического раствора натрия хлорида (Дальхимфарм, РФ). Исследуемые вещества вводили мышам внутрибрюшинно однократно (4 группы по два наблюдения в каждой) в дозах 250–631 мг/кг. Наблюдение за подопытными животными осуществляли в течение 14 суток, регистрировали данные об общем состоянии, динамике веса и гибели.

Противолучевая эффективность

Противолучевую активность полученных соединений изучали по методу Тилла и МакКаллока по числу эндогенных гемопоэтических селезеночных колоний (ГСК) на 8-е сутки после лучевого воздействия [15]. Противолучевая активность каждой изучаемой соли была проведена в отдельном независимом эксперименте по отдельной схеме. В каждом опыте мышей распределяли на 9 экспериментальных групп: одну контрольную и 8 опытных (по 15–20 особей в каждой). Все животные получали воздействие γ -излучения в дозе 6 Гр на установке «Рокус» (РФ) с источником Co⁶⁰ при мощности дозы 0,45–0,50 Гр/мин. При этом животным опытных групп за 30 минут до облучения однократно, внутрибрюшинно вводили исследуемое соединение и соединение сравнения (T1023) в эквивалентных дозах: 93, 149, 279 и 483 мкмоль/л. На 8-е сутки всех животных выводили из опыта путём цервикальной дислокации под эфирным наркозом, выделяли селезенки, фиксировали их 24 ч в кислой жидкости Буэна и далее при 5-кратном увеличении (лупа Levenhuk Zeno 500, США) проводили подсчёт числа гемопоэтических колоний на их поверхности.

При анализе для корректного сопоставления данных независимых экспериментов все количественные показатели по каждому опыту нормировались на среднее число эндоколоний контрольной группы (не получавшей введение каких-либо веществ) для данного опыта. То есть после такой нормировки число эндоколоний в контрольной группе каждого опыта становилось равным $1,0 \pm SD$, и эффекты изучаемого соединения и соединения-сравнения в каждом опыте сопоставлялись с этим уровнем и между собой при эквивалентных дозах.

Статистическая обработка

Выраженность противолучевых эффектов соединений и их сопоставление между собой проводили при множественном межгрупповом сравнении числа эндоколоний путём дисперсионного анализа рангов Краскела – Уоллиса с применением Q-критерия Данна [16].

Результаты и обсуждение

Перед началом практических фармакологических исследований нами был выполнен поиск и химический синтез в обширном ряду химических аналогов соединения T1023 и его солей с различными кислотами с целью выявления химически стабильных соединений с более выраженными противолучевыми свойствами.

Для фармакологических исследований было синтезировано, выделено, идентифицировано и охарактеризовано 6 новых соединений. Направленный синтез включал либо реакцию алкилирования подходящим галоидным алкилом с образованием нужной соли либо использование метода выделения свободного основания из соли исходного соединения T1023 и последующего взаимодействия его с фармакологически инертными неорганическими и органическими кислотами. Чистота полученных соединений была подтверждена данными элементного анализа и тонкослойной хроматографии.

Для оценки безопасности новых синтезированных соединений определены показатели средней летальной дозы (LD_{50}) экспресс-методом по В.Б. Прозоровскому. Наблюдение за подопытными животными осуществляли непрерывно в течение первых 5 ч после инъекции и далее – ежедневно в течение 2 недель с регистрацией гибели и динамики массы тела.

В диапазоне исследованных доз все новые синтезированные соединения вызвали развитие острой интоксикации, проявления которой были аналогичны действию токсических доз исходного соединения T1023. В картине интоксикации наблюдались гиперкинезы различной степени выраженности: развивались адинамия, тремор, инициация сосудов хвоста и ушных раковин, обильный диурез, дефекация, тенезмы. Ухудшение состояния сопровождалось урежением дыхания, развитием приступов клонических судорог, на пике которых регистрировалась

гибель. При вскрытии павших животных видимых изменений внутренних органов отмечено не было.

На основании данных о выживаемости животных определены показатели LD_{50} , представленные в таблице 1.

Таблица 1

Показатели «острой» токсичности синтезированных соединений по В.Б. Прозоровскому для аутбредных мышей

[Table 1]

Indicators of acute toxicity of synthesized compounds for outbred mice according to V. B. Prozorovsky method

Соединения [Compounds]	LD_{50} (95% доверительный интервал), мг/кг [LD_{50} (95% confidence interval), mg/kg]
T1023	410 (388–432)
T1080	325 (219–455)
T1082	410 (268–552)
T1091	460 (153–861)
T1095	355 (249–461)
T1096	447 (312–596)
T1100	410 (316–552)

Сопоставление полученных показателей LD_{50} с показателями острой токсичности для T1023, полученными нами ранее, свидетельствует, что все синтезированные соединения умеренно токсичны – замена солеобразующей кислоты значимо не изменяет токсические характеристики [17].

Радиозащитную эффективность синтезированных производных также сопоставляли с исходным соединением T1023. Обобщённые результаты 6 независимых экспериментов представлены в таблице 2.

Таблица 2

Скрининг противолучевой активности новых синтезированных соединений в сравнении с исходным T1023

[Table 2]

Screening of the radioprotective activity of the new synthesized compounds in comparison with the original compound T1023

Солеобразующая кислота [Salifiable acid]	Соединения [Compounds]	Число эндоколоний, отн. ед. ¹ ($M \pm SD$) [Numbers of endocolonies, relative units ¹ ($M \pm SD$)]			
		93 мкмоль/л [93 mcmmole/l]	149 мкмоль/л [149 mcmmole/l]	279 мкмоль/л [279 mcmmole/l]	483 мкмоль/л [483 mcmmole/l]
HI pK=-11,0	T1091	1,2 ± 0,5#	1,6 ± 0,9	1,3 ± 0,5#	2,1 ± 0,6*
	T1023 ²	1,7 ± 0,6*	1,9 ± 0,9*	2,1 ± 0,7*	1,8 ± 0,8*
HCl pK=-7,0	T1080	1,0 ± 0,6#	1,2 ± 0,6#	1,6 ± 1,0#	1,4 ± 0,5
	T1023 ²	1,6 ± 0,6	1,7 ± 0,6*	2,3 ± 1,0*	1,7 ± 0,7*
C ₂ H ₅ (OH)(H ₂ PO ₃) ₂ pK=1,7	T1096	1,2 ± 0,5#	1,5 ± 0,5	1,7 ± 0,6#	1,3 ± 0,5#
	T1023 ²	1,5 ± 0,5	1,6 ± 0,5*	2,1 ± 0,4*	1,7 ± 0,7*
H ₃ PO ₃ pK=1,8	T1095	2,2 ± 1,3*	3,0 ± 1,2*	3,3 ± 1,9*	2,7 ± 1,7*
	T1023 ²	2,5 ± 1,4*	2,6 ± 1,3*	3,7 ± 1,8*	3,4 ± 2,3*

Солеобразующая кислота [Salifiable acid]	Соединения [Compounds]	Число эндоколоний, отн. ед. ¹ (M ± SD) [Numbers of endocolonies, relative units ¹ (M ± SD)]			
		93 мкмоль/л [93 mcmmole/l]	149 мкмоль/л [149 mcmmole/l]	279 мкмоль/л [279 mcmmole/l]	483 мкмоль/л [483 mcmmole/l]
H ₄ C ₄ O ₄ pK=1,9	T1100	1,4 ± 1,0	1,6 ± 0,8	1,7 ± 0,8*#	1,5 ± 0,6
	T1023 ²	1,5 ± 0,6	1,8 ± 0,7*	2,5 ± 1,0*	1,8 ± 1,1
H ₃ PO ₄ pK=2,1	T1082	2,8 ± 1,6* #	3,1 ± 1,6*	3,7 ± 1,7*	3,0 ± 2,1*
	T1023 ²	1,9 ± 1,0	3,1 ± 1,4*	3,2 ± 1,3*	2,8 ± 1,7*

Примечания: 1 – данные нормированы на среднее число селезеночных эндоколоний в контроле облучения каждого опыта, после такой нормировки число эндоколоний в контрольной группе каждого опыта равно 1,0 ± SD; 2 – в каждом опыте соединение T1023 использовано в качестве соединения сравнения; символы *, # – статистически достоверное различие (p < 0,05) по Q-критерию Данна с группой контроля облучения (*) и с группой, получавшей эквимоллярную дозу T1023 (#) [Notes: 1 – data are normalized to the average number of splenic endocolonies in the irradiation control for each experiment, and after such normalization, the number of endocolonies in the control of each experiment is 1.0 ± SD; 2- in each experiment compound T1023 was used as a reference compound; symbols *, # – statistically significant difference (p < 0.05) according to Dunn's test with control group].

Если токсичность новых соединений существенно не отличалась от исходного, то их противолучевая эффективность различалась значительно.

Введение в исходную химическую структуру T1023 йодистоводородной, хлористоводородной, оксиэтилидендифосфоновой и малеиновой кислот ослабляло противолучевую активность. Если исходное соединение T1023 проявляло выраженное противолучевое действие при всех использованных дозах, то противолучевая активность соединений T1080, T1091, T1096 и T1100 реализовывалась только при использовании их в высоких дозах (483 мкмоль/л) – выживаемость ГСК повышалась максимум в 2,1 раза в сравнении с облучённым контролем.

Наличие в химической структуре фосфористой кислоты не ослабляло противолучевую активность. Соединение T1095 при применении во всех использованных дозах оказывало значимое противолучевое действие, не уступавшее в эффективности исходному T1023. Оба изучаемых соединения оказывали выраженное, равное по эффективности противолучевое действие при применении в дозах 93 мкмоль/л, увеличивая выживаемость ГСК в 2,2–2,5 раза. С увеличением доз до 149 мкмоль/л выживаемость ГСК повышалась в 2,6–3,0 раза. Наиболее выраженное противолучевое действие обоих соединений реализовывалось при использовании в дозах 279 мкмоль/л – в этом случае выживаемость ГСК увеличивалась в 3,3–3,7 раза. Но дальнейшее повышение дозы до 483 мкмоль/л вызывало снижение противолучевой активности.

Введение в химическую структуру фосфорной кислоты не только не ослабляло, но и увеличивало противолучевую активность. Соединение T1023 и его производное – соединение T1082 реализовали наиболее выраженное, равное по эффективности противолучевое действие при дозах, равных 279 мкмоль/л, которое в этих опытах повышало выживаемость ГСК в 3,2–3,7 раза. Снижение доз соединений до 149 мкмоль/л умеренно ослабляло их противолучевое действие, но, в целом, их противолучевая эффективность также оставалась высокой и равной – выживаемость ГСК повышалась в 3,1 раза. Вместе с тем, снижение доз соединений до 93 мкмоль/л сопро-

вождалось качественно различной противолучевой активностью T1023 и T1082 (рис.). Если соединение T1023 в этом эксперименте, как и в предыдущих повторностях, при такой дозе не оказывало значимого противолучевого действия, то противолучевая активность T1082 при такой дозе была достоверно более выраженной и сохранялась на высоком, статистически значимом уровне – выживаемость ГСК повышалась в 2,8 раза.

Рис. Относительная противолучевая эффективность исследованных соединений в сравнении с T1023 при различных эквимоллярных дозах. Разброс в точках соответствует ±SME.

[Fig. Relative radioprotective efficacy of the studied compounds in comparison with T1023 at different equimolar doses. The scatter in points corresponds to ±SME]

Таким образом, нами были разработаны методы синтеза и осуществлена наработка производных соединения T1023 – солей N-изобутаноил-S-изопропилизотиомочевинны с хлористоводородной (T1080), йодистоводородной (T1091), фосфорной (T1082), фосфористой (T1095), оксиэтилидендифосфоновой (T1096), малеиновой (T1100) кислотами.

По результатам скрининга противолучевой активности новых синтезированных производных T1023 отобрано два соединения, противолучевая эффективность которых сопоставима (T1095) либо превосходит (T1082) исходное соединение в области меньших, относительно безопасных доз.

Заключение

Анализ современного состояния исследований в области противолучевых средств свидетельствует о том, что как в России, так и за рубежом проблема защиты населения от радиационного воздействия остаётся нерешённой. В настоящее время к медицинскому применению на территории Российской Федерации допущены цистамин, мексамин, Б-190 (индралин); амифостин (этиол, WR-2721) является основным противолучевым средством, одобренным в США и Западной Европе [1]. Однако данные препараты не в полной мере отвечают современным требованиям по эффективности и переносимости.

Использование ингибиторов NOS в качестве противолучевых средств может стать перспективным решением сложившейся проблемы. Результаты проведённого скрининга свидетельствуют, что соединение T1023 и его производные – соли N-изобутаноил-S-изопропилизотиомочевина оказывают выраженное противолучевое действие при их применении в относительно безопасных малотоксичных дозах, обеспечивая существенно большую терапевтическую (радиозащитную) широту в сравнении с известными радиозащитными средствами. Дальнейшая экспериментальная работа в этой области может послужить основанием к проведению доклинических исследований полученных соединений в качестве инновационных отечественных противолучевых лекарственных средств.

Данная работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-415-40000р_а.

Литература

1. Grebenyuk A.N., Gladkikh V.D. Modern condition and prospects for the development of medicines towards prevention and early treatment of radiation damage // *Biology bulletin*. 2019. Vol. 46, No 11. P. 1540-1555.
2. Рождественский Л.М. Проблемные вопросы разработки противолучевых средств // *Радиац. биология. Радиоэкология*. 2019. Т.59, № 2. С. 117-126.
3. Singh V.K., Newman V.L., Romaine P.L., et al. Radiation countermeasure agents: an update (2011-2014) // *Expert Opin Ther Pat*. 2014. Vol. 24, No 11. P. 1229-1255.
4. Singh V.K., Seed T.M., Olabisi A.O. Drug discovery strategies for acute radiation syndrome // *Expert Opin Drug Discov*. 2019. Vol. 14, No 7. P. 701-715.
5. Рождественский Л.М. Актуальные вопросы поиска и исследования противолучевых средств // *Радиац. биология. Радиоэкология*. 2013. Т. 53, № 5. С. 513-520.
6. Гудков С.В., Попова Н.Р., Брусков В.И. Радиозащитные вещества: история, тенденции и перспективы // *Биофизика*. 2015. Т. 60, № 4. С. 801-811.
7. Филимонова М.В., Филимонов А.С. Современные проблемы и перспективы разработки и внедрения отечественных противолучевых лекарственных средств // *Радиац. биология. Радиоэкология*. 2019. Т. 59, № 2. С. 127-131.
8. Vítěček J., Lojek A., Valacchi G., et al. Arginin-based inhibitors of nitric oxide synthase: therapeutic potential and challenges // *Mediators Inflamm*. 2012. 2012: Art.ID: 318087.
9. Филимонова М.В., Проскурников С.Я., Шевченко Л.И., и др. Радиозащитные свойства производных изотиомочевина с NO-ингибирующим механизмом действия // *Радиац. биология. Радиоэкология*. 2012. Т. 52, № 6. С. 593-601.
10. Minhas R., Bansal Y., Bansal G. Inducible nitric oxide synthase inhibitors: A comprehensive update // *Medicinal Research Reviews*. 2020. Vol. 40, No 3. P. 823-855.
11. Филимонова М.В., Шевченко Л.И., Трофимова Т.П., и др. К вопросу о механизме радиозащитного действия ингибиторов NO-синтаз // *Радиац. биология. Радиоэкология*. 2014. Т. 54, № 5. С. 500-506.
12. Филимонова М.В., Шевченко Л.И., Макачук В.М. и др. Радиозащитные свойства ингибитора NO-синтаз T1023. I. Показатели противолучевой активности и взаимодействие с другими радиопротекторами // *Радиац. биология. Радиоэкология*. 2015. Т. 55, № 3. С. 250-259.
13. Миронов А.Н., Бунятян Н.Д., Васильев А.Н., и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2012. Т. 1. 944 с.
14. Прозоровский В.Б., Прозоровская М.П., Демченко В.М. Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки // *Фармакол. и токсикол*. 1978. Т. 41, № 4. С. 497-502.
15. Till J.E., McCulloch E.A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells // *Radiat. Res*. 2012. Vol. 178, No 2: AV3-7.
16. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1998. 462 с.
17. Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения // *Химико-фармацевтический журнал*. 2003. Т. 37, № 3. С. 32-34.

Поступила: 11.09.2020 г.

Филимонова Марина Владимировна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации. **Адрес для переписки:** 249036, Россия, Калужская область, г. Обнинск, ул. Королёва, д. 4; E-mail: mari_fil@mail.ru

Сабурова Алина Сергеевна – научный сотрудник, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Россия

Шевченко Людмила Ивановна – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Россия

Макарчук Виктория Михайловна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Россия

Лычагин Анатолий Александрович – кандидат физико-математических наук, заведующий лабораторией, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Россия

Филимонов Александр Сергеевич – научный сотрудник, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Россия

Для цитирования: Филимонова М.В., Сабурова А.С., Шевченко Л.И., Макарчук В.М., Лычагин А.А., Филимонов А.С. Влияние вида солеобразующих кислот на противолучевую активность аналогов T1023 – солей N-изобутаноил-S-изопропилизотиомочевины // Радиационная гигиена. 2021. Т. 14, № 1. С. 68-74. DOI: 10.21514/1998-426X-2021-14-1-68-74

Influence of the type of salt-forming acids on the antiradiation activity of T1023 analogs – salts of N-isobutanoyl-S-isopropylisothiurea

Marina V. Filimonova, Alina S. Saburova, Lyudmila I. Shevchenko, Victoria M. Makarchuk, Anatoly A. Lychagin, Alexander S. Filimonov

A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

According to leading experts, the vast arsenal of radioprotective agents available in the world today does not fully meet modern practical needs, both in the field of radiation protection, and in the prevention and treatment of complications of radiotherapy. The purpose of the study was to evaluate the effect of the salt-forming acids type on the radioprotective activity of NOS inhibitor T1023. The chemical part of this study included methods of chemical synthesis, physicochemical and elemental analysis. Pharmacological part – assessment of acute toxicity using V.B. Prozorovsky express method and the study of radioprotective activity using Till and McCulloch method based on the ability of mice hematopoietic cells to form spleen colonies after irradiation. The number of endogenous hematopoietic spleen colonies were assessed on the 8th day after total exposure to gamma-irradiation at a dose of 6 Gy in six independent experiments. As a result of directed chemical synthesis, six new derivatives of T1023 – salts of N-isobutanoyl-S-isopropylisothiurea have been developed, identified and characterized. The results of studying the safety and radioprotective activity of the synthesized compounds showed that changes in the salt-forming acid don't significantly influence the toxicity: all studied compounds are in the 3rd class of toxicity and hazard. At the same time, it was found that the replacement of the salt-forming acid significantly influenced the severity of the radioprotective effect. For some of these compounds radioprotective efficacy is comparable to or exceeds the efficacy of the initial compound T1023. It is important to note that these new compounds were used in lower, more save doses than T1023. The results suggest promising further development of NOS inhibitors – isothiurea derivatives as radioprotective agents.

Key words: radioprotective efficacy, acute toxicity, hematopoietic splenic colonies, NO synthase inhibitors.

References

1. Grebenyuk AN, Gladkikh VD. Modern condition and prospects for the development of medicines towards prevention and early treatment of radiation damage. *Biology bulletin*. 2019;46(11): 1540-1555.
2. Rozhdestvensky LM. Challenges of development of radiation countermeasures. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya = Radiation Biology. Radioecology*. 2019;59(2): 117-126. (In Russian).
3. Singh VK, Newman VL, Romaine PL, Wise AY, Seed TM. Radiation countermeasure agents: an update (2011-2014). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2014;24(11): 1229-1255.
4. Singh VK, Seed TM, Olabisi AO. Drug discovery strategies for acute radiation syndrome. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2019;14(7): 701-715.
5. Rozhdestvensky LM. Actual problems of searching and studying radiation countermeasures. *Radiatsionnaya bi-*

Marina V. Filimonova

A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation

Address for correspondence: Koroleva str., 4, Obninsk, 249036, Kaluga region, Russia; E-mail: mari_fil@mail.ru

- ologiya. *Radioekologiya = Radiation Biology. Radioecology*. 2013;53(5): 513-520. (In Russian).
6. Gudkov SV, Popova NR, Bruskov VI. Radioprotectors: History, Trends and Prospects. *Biofizika = Biophysics*. 2015;60(4): 801-811. (In Russian).
7. Filimonova MV, Filimonov AS. Contemporary problems and perspectives of development and implementation of domestic radioprotective drugs. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya = Radiation Biology. Radioecology*. 2019;59(2): 127-131. (In Russian).
8. Viteček J, Lojek A, Valacchi G, Kubala L. Arginine-Based Inhibitors of Nitric Oxide Synthase: Therapeutic Potential and Challenges. *Mediators of Inflammation*. 2012. 2012: Art.ID: 318087.
9. Filimonova MV, Proskuryakov SI, Shevchenko LI, Shevchuk AS, Lushnikova GA, Makarchuk VM, et al. Radioprotective properties of isothiourea derivatives with NO-inhibitory mechanism of action. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya = Radiation Biology. Radioecology*. 2012;52(6): 593-601. (In Russian).
10. Minhas R, Bansal Y, Bansal G. Inducible nitric oxide synthase inhibitors: A comprehensive update. *Medicinal Research Reviews*. 2020;40(3): 823-855.
11. Filimonova MV, Shevchenko LI, Trofimova TP, Makarchuk VM, Shevchuk AS, Lushnikova GA. On the mechanism of radioprotective effect of NO-synthase inhibitors. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya = Radiation Biology. Radioecology*. 2014;54(5): 500-506. (In Russian).
12. Filimonova MV, Shevchenko LI, Makarchuk VM, Chesnakova EA, Izmaytyeva OS, Korneeva TS, et al. Radioprotective properties of NO-synthase inhibitor T1023: I. Indicators of radioprotective activity and interaction with other radioprotectors. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya = Radiation Biology. Radioecology*. 2015;55(3): 250-259. (In Russian).
13. Mironov AN, Bunyatyan ND, Vasilyev AN, Verstakova OL, Zhuravleva MV. Guidelines of preclinical trials of drugs. Moscow; 2012. Vol. 1. 944 p. (In Russian).
14. Prozorovsky VB, Prozorovskaya MP, Demchenko VM. Express method for determining the average effective dose and its error. *Farmakologiya i toksikologiya = Pharmacology and toxicology*. 1978;41(4): 497-502. (In Russian).
15. Till JE, McCulloch EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiation Research*. 2012;178(2): AV3-7.
16. Glantz S. Primer of biostatistics. Moscow, 1998. 462 p. (In Russian).
17. Berezovskaya IV. Classification of substances with respect to acute toxicity for parenteral administration. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2003;37(3): 139-141.

Received: September 11, 2020

For correspondence: Marina V. Filimonova – Doctor of Biological Sciences, Head of Laboratory, A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation (Koroleva str., 4, Obninsk, 249036, Kaluga region, Russia; E-mail: mari_fil@mail.ru)

Alina S. Saburova – Researcher, A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

Lyudmila I. Shevchenko – Candidate of Chemistry Sciences, Leading Research, A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

Victoria M. Makarchuk – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

Anatoly A. Lychagin – Candidate of Physical and Mathematical Sciences, Head of Laboratory, A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

Alexander S. Filimonov – Researcher, A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

For citation: Filimonova M.V., Saburova A.S., Shevchenko L.I., Makarchuk V.M., Lychagin A.A., Filimonov A.S. Influence of the type of salt-forming acids on the antiradiation activity of T1023 analogs – salts of N-isobutanoyl-S-isopropylisothiourea. *Radiatsionnaya Gygiena = Radiation Hygiene*. 2021. Vol. 14 No. 1. P. 68-74. (In Russian). DOI: 10.21514/1998-426X-2021-14-1-68-74