

Л.В. Ермолова, М.Г. Проданчук, член.-кор. АМН України,
І.В. Лепьошкін, к.м.н.

РОЗРОБКА РОЗРАХУНКОВИХ МОДЕЛЕЙ ПРОГНОЗУ НЕБЕЗПЕЧНОСТІ НЕОНІКОТИНО- ІДНИХ ІНСЕКТИЦИДІВ

Інститут екогієни і токсикології ім.Л.І.Медведя, м.Київ

У зв'язку зі збільшенням виробництва хімічних засобів захисту рослин одним із актуальних напрямків сучасної токсикології та гігієни пестицидів є розробка прогнозу небезпечності препаратів ще до впровадження їх в сільськогосподарське виробництво. Як підтвердили проведені дослідження останніх років, зокрема в Інституті екогієни і токсикології ім.Л.І.Медведя [1], значну допомогу в цьому можуть надати розрахункові методи прогнозування з використанням математичних моделей.

Неонікотинοїдні інсектициди є системними пестицидами, можуть застосовуватися на пізніх фазах розвитку рослин, що обумовлює потенційну можливість їх накопичення в рослинницькій продукції. Вони помірно стійкі в об'єктах навколишнього середовища [2 — 5].

Враховуючи те, що неонікотинοїди є новою групою речовин з незвичайним механізмом дії і параметри токсикометрії діючих речовин (д.р.) в певній мірі відрізняються від д.р. відомих пестицидних препаратів, було доцільно провести дослідження зв'язків між LD_{50} $per\ os$ та $NOEL_{chr}$ ($NOEL$ - недіюча доза в хронічному токсикологічному експерименті на тваринах) та фізико-хімічними параметрами.

Відповідно до поставлених завдань було виявлено та математично описано кореляційні залежності між характеристиками структур молекул неонікотинοїдних інсектицидів та їх токсичністю. Дослідження проведені на прикладі діючих речовин та метаболітів неонікотинοїдних інсектицидів: Ацетаміпрід; AKD 1022; Клотіанідін; Динотефуран; Імідаклопрід; Нікотин; Нітенпірам; Тіаклопрід; Тіаметоксам та ряду їх метаболітів. Ці діючі речовини за-

ресстровані чи плануються для застосування у сільському господарстві України, або зареєстровані в деяких Європейських країнах.

У якості параметра, що моделюється, були вибрані величини LD_{50} та $NOEL_{chr}$ для шурів при пероральному надходженні діючих речовин та їх метаболітів [2,3,6 -9].

Виходячи з відомостей щодо механізму токсичної дії препаратів (агоністична дія на нікотинові ацетилхолінові рецептори), а також на підставі даних літератури у якості параметрів, що можуть впливати на величини LD_{50} та $NOEL_{chr}$, нами були визначені показники, від яких залежать процеси токсикокінетики та токсикодинаміки: молекулярна маса — M_m ; коефіцієнт розподілу октанол-вода- $\log\ Po/w$; поверхня молекули- S і загальна енергія молекули- $E\ tot$.

Параметри токсикометрії та деякі фізико-хімічні властивості були взяті із довідкової літератури [3,6,9]. Розрахунки величин квантово-механічних параметрів проводили за допомогою програми HyperChem.

Дослідження зв'язку фізико-хімічних параметрів неонікотинοїдних інсектицидів з показниками гострої та хронічної токсичності проводили за допомогою програми Statistica V.5.

На першому етапі досліджень для вивчення зв'язку між змінними (LD_{50} і $NOEL_{chr}$) та параметрами, що характеризують особливості будови молекул, був застосований кореляційний аналіз за методом Пірсона.

Однак коефіцієнти кореляції відображають тільки вірогідний статистичний зв'язок між ознаками і цей зв'язок може мати випадковий характер. Для кількісної оцінки параметрів моделей, що описує

взаємозв'язок однієї залежної змінної (LD_{50} і $NOEL_{chr}$, T_{50}) та декількох незалежних, нами була використана процедура багатовимірної регресії з прямим і зворотним покроковим вибором змінної. Пряма процедура починалася без змінних в моделі, і змінні додавалися до тих пір, поки нова змінна давала значущий внесок в модель. Зворотна процедура починалася зі всіма змінними в моделі. На кожному етапі робили перевірку з метою переконатися, що всі раніше введені змінні все ще істотні; змінні, які ставали неістотними, усувалися. Остаточну модель регресії оцінювали з використанням алгоритму Грехем-Шмідта для отримання точнішої оцінки.

Вихідні дані представлені в таблиці.

Як показали дослідження, найбільш сильний зв'язок і найбільший рівень значущості існують між параметром $Lg\ LD_{50}$ та загальною енергією молекул, молекулярною масою, поверхнею молекул неонікотинοїдних інсектицидів.

Виходячи з візуального аналізу кореляційних зв'язків, слід зазначити, що залежність між Po/w та LD_{50} має вірогідно нелінійний зв'язок. Були одержані рівняння, що дозволяють розрахувати $LgLD_{50}$ та $LgNOEL_{chr}$ неонікотинοїдних інсектицидів, використовуючи фізико-хімічні та квантово-механічні параметри молекул.

Отримані регресійні рівняння представлено нижче:

$$LgLD_{50} = 1.07 - 0.3 \times E_{tot} 10^{-4};$$

$$(r=0.67; n=15).$$

Отримано також рівняння множинної регресії:

$$Lg\ LD_{50} = 6,48 + 2,68 \times M_m - 2,0 \times S;$$

$$(r=0.70; n=15).$$

Кореляція була значима при $p < 0.05$.

Із збільшенням молекулярної маси $LgLD_{50}$ збільшується, відповідно токсичність знижується, що узгоджується з одержаними раніше даними [10]. Значення $LgLD_{50}$ неонікотинοїдів в гострому експерименті залежить від загальної енергії молекули: збільшення величини E_{tot} веде до зростання токсичності речовини, що підтверджується даними літератури [10].

Виявлено також залежність між $LgLD_{50}$ та $\log Po/w$. Одержано наступне рівняння, що описує зв'язок

Перелік хімічних речовин неонікотинοїдних інсектицидів, що вивчалися

Звичайні назви діючих речовин або метаболітів	Хімічні назви діючих речовин (IUPAC)
Ацетаміприд	N1-(6-хлоро-3-піридил)метил-N2-ціано-N1-метилацетамідин
AKD 1022	1-[(2хлор-5-тіазоліл)метил]тетрагідро-3,5-диметил-N-нітро-1,3,5-тріазин-2(1H)-імін
Клотіанідін	(E)-1-(2-хлоро-1,3-тіазол-5-ілметил)-3-метил-2-нітрогуанідін
Динотефуран	(EZ)-(RS)-1-метил-2-нітро-3-(тетрагідро-3-фурилметил)гуанідін
Імадаклоприд	1-(6-хлор-3-пиридинилметил)-N-нітро-імідазолін-2-ілідин-амін
Нікотин	(S)-3-(1-метилпіролідін-2-іл)піридин
Тіаклоприд	(Z)-3-(6-хлоро-3-піридилметил)-1,3-тіазолідін-2-іліденціанамід
Тіаметоксам	(EZ)-3-(2-хлоро-1,3-тіазол-5-ілметил)-5-метил-1,3,5-оксадіазінан-4-іліден(нітро)амін
Метаболіт Імадаклоприд 1	1-(6-хлор-3-піридилметил)-2-імідазолідинон
Метаболіт Імадаклоприд 2	1-(6-хлор-3-піридилметил)-N-нітро-(4-імідазолін-2-іліден)амін
Метаболіт Імадаклоприд 3	1-(6-хлор-3-піридилметил)-N-нітрозо(імідазолідін-2-іліден)амін
Метаболіт Імадаклоприд 4	1-(6-хлор-3-піридилметил)-імідазолідін-2-іліден-амін
Метаболіт Тіаклоприд 1	(Z)-3-(6-хлоро-3-піридиніл)метил-2-тіазолідініліден уреа
Метаболіт Тіаклоприд 2	2-[1-(6-хлорпіридин-3-ілметил)-3-карбамоїлл-уреїдо]-етан

між змінними, які вивчаються:

$$\text{Lg LD}_{50} = 3.15 - 0.71x(\text{logPo/w}) - 0.64x(\text{logPo/w})^2; (r=0.92; n=10).$$

Як видно з графіку (рис.1), при збільшенні величин Po/w величини LgLD_{50} зростають. Із зростанням log Po/w від -1,09 до 0,06 токсичність знаходиться на рівні $\text{Lg LD}_{50} > 3$ (LD_{50} 1563-2000 мг/кг), потім при збільшенні log Po/w до 0,9 величина Lg LD_{50} знижується до 1,740 (LD_{50} нікотину 55 мг/кг) — токсичність підвищується. Виявлена залежність між показником гострої токсичності та ліпофільністю сполук узгоджується з даними, що отримані раніше [10].

Цю залежність можна пояснити тим, що ліпофільність сполуки відіграє важливу роль при проходженні молекули через мембрану і таким чином сприяє доставці молекули до місця токсичної дії. Форма залежності може бути також пов'язана з тим, що для аналізу взято невелику

кількість сполук. У разі збільшення вибірки форма залежності може змінюватись.

Схожі дані були отримані японськими вченими [10] при вивченні фармакологічної активності заміщених феніл- та бензімідазоліл-метилпіриділімідазолів. Було показано, що їх фармакологічна активність добре корелює з параметром ліпофільності: так званим коефіцієнтом розподілу міцелій/вода. Авторами одержано рівняння залежності для 18 речовин ($r=0.77$) та визначено ряд речовин, що мають найбільшу фармакологічну активність.

Нами також отримані рівняння для розрахунку LgNOELchr досліджуваних діючих речовин:

$$\text{LgNOELchr} = 2,27 - 1,05 \text{S} + 0,001x\text{S}^2; (r=0.91; n=7);$$

$$\text{LgNOELchr} = 1,32 - 0,81 \text{LogPo/w}; (r=0.96; n=7).$$

Значення недіючого рівня в хронічних експериментах для неонікотинοїдів залежить від площі та ліпофільності молекул. Показано параболічну залежність між площею молекули та LgNOELchr . Існує оптимум, при якому молекула за розміром відповідає місцю взаємодії з рецептором, відповідно зростає її токсичність.

Перевищення цього розміру веде до різкого зменшення токсичності. Ліпофільність молекул (LogPo/w) — це найважливіший показник токсичності неонікотинοїдів, який впливає на токсикокінетику пестицидів. Величина LgNOELchr діючих речовин для шурів зменшується при збільшенні коефіцієнту розподілу октанол-вода. Одержані рівняння можуть бути корисні для точнішого визначення рівня дози та зменшення числа тварин при вивченні хронічного ефекту цих сполук.

Прогнозуючі можливості рівнянь можуть розглядатися повністю задовільними зважаючи на те, що хронічна токсичність залежить від багатьох чинників і може значно коливатися.

З метою перевірки можливості застосування моделей для прогнозування токсикометричних показників неонікотинοїдних інсектицидів за формулами був проведений розрахунок та порівняння експериментальних даних з розрахунковими. Експериментальні та розрахункові величини LgLD_{50} діючих речовин представлені на рис.2.

На осі X- 1- AKD1022; 2- Клотіанідін; 3- Динотефуран; 4- Метаболіт Тіаклоприд 1; 5- Метаболіт Тіаклоприд 2; 6- Метаболіт Імадаклоприд 1; 7- Нітенпірам; 8- Тіаметоксам; 9- Метаболіт Імадаклоприд 2; 10- Метаболіт Імадаклоприд 3; 11- Імадаклоприд; 12- Тіаклоприд; 13- Метаболіт Імадаклоприд

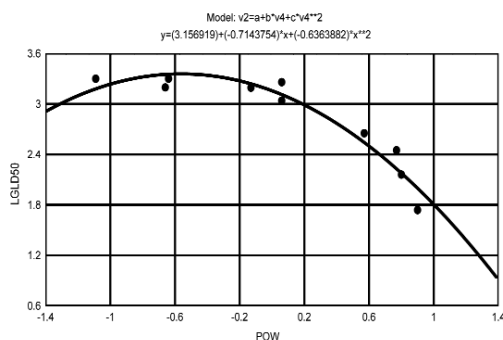


Рис. 1. Кореляційні залежності між log Po/w та LgLD_{50} неонікотинοїдних інсектицидів ($y = \text{Lg LD}_{50}$, $x = \text{log Po/w}$)

4; 14- Ацетамиприд; 15- Никотин.

Небезпечність пестицидів визначається не тільки їх токсичністю, але і можливістю надходження їх залишкових кількостей в організм людини. З токсиколого-гігієнічних позицій найбільш небезпечним є надходження залишкових кількостей з сільськогосподарською продукцією. Розраховано кореляційні залежності між величиною T_{50} діючих речовин в яблуках та ліпофільністю цих хімічних сполук. На підставі вивчення динаміки залишкових кількостей неонікотиноїдів при застосуванні вищезазначених препаратів нами були розраховані коефіцієнти елімінації — Ke_1 і періоди напіврозпаду речовин T_{50} в яблуках. Дані величини дозволили кількісно оцінити стабільність речовин. Так, згідно "Гігієнічної класифікації пестицидів за ступенем небезпечності" (ДСанПіН8.8.1.002-98), діючі речовини за рівнем стійкості в яблуках можна віднести до 2-4 класів небезпечності.

Отримано рівняння для розрахунку LgT_{50} , а саме:

$$LgT_{50} = -11,49 + 21,91 \log Po / w$$

При зростанні ліпофільності період напіврозпаду збільшується.

Таким чином, в результаті проведених досліджень нами були одер-

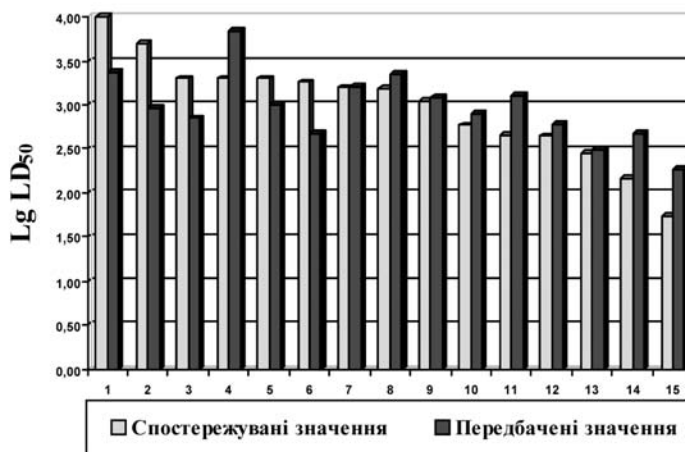


Рис. 2. Спостережувані та передбачені значення $LgLD_{50}$ неонікотиноїдних інсектицидів

жані регресійні моделі, що дозволяють із задовільною точністю розраховувати показники токсикометрії неонікотиноїдних інсектицидів, використовуючи фізико-хімічні, геометричні та квантово-механічні параметри цих сполук.

Встановлено, що показник гострої токсичності (величина $LgLD_{50}$) діючих речовин цієї групи для щурів залежить від молекулярної маси, площі молекули та загальної енергії молекули та її ліпофільності.

Показник хронічної токсичності

($LgNOELchr$) неонікотиноїдів може бути передбачений за допомогою параметру ліпофільності та геометричних властивостей молекул, які описують процеси токсикокінетики та токсикодинаміки.

Отже, зазначені показники можуть бути використані при оцінці небезпечності нових неонікотиноїдних інсектицидів. По мірі накопичення бази даних прогнозуючі рівняння переглядатимуться та удосконалюватимуться.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Лешошкін І.В.* Вплив компонентів препаративних форм на токсичність та токсикокінетику синтетичного піретроїду дельтаметрину та фосфорорганічного інсектициду бензофосфату/ Автореф. дис... канд. мед. наук.— Київ, 1996.— 22 с.
2. *Roberts T., Huston D.* Metabolic Pathway of agrochemicals. P. II, Insecticides and Fungicides. 1999, Cornwall, UK, P.107-120.
3. Pesticide Factsheet of EPA. Acetamiprid.- 2002.- March 15.-34 p.
4. Material Safety Data Sheet: Admire 2 F (imidacloprid). Bayer Corporation, Agriculture Division, Kansas City. MO.-1994.— 210 p.
5. Insecticide Factsheet. Imidacloprid. //J. of Pesticide reform. Spring .-2001.- Vol.21, N.1.-P.35-41.
6. EPA Federal Register Document 40 CFR. P.180, Imidacloprid. 1999. -V.64, №147.- P.41804-41810.
7. Pflanzenschutz Nachrichten Bayer. Leverkusen.- 1991.-V.44 (62).- P.113-137.
8. RTECS: Registry of Toxic Effects of Chemical Substances. National Institute for Occupational Safety and Health, Cincinnati, Ohio (Internet Version). MICROMEDEX. Greenwood Village. CO. 2001.
9. Pflanzenschutz Nachrichten Bayer. Calipso. Leverkusen.- 2001-2, V.54.- P.281-291.
10. Akito Tanaka, Katsuhiko Nakamura, Isao Nakanishi, Hideaki Fujiwara. A Novel and Useful Descriptor for Hydrophobicity, Partition Coefficient Micellar- Water, and Its Application to a QSAR Study of Antiplatelet Agents//J. of Medicinal Chemistry.- 1994.- Vol.37, N. 26.- P. 4563-4566.

Л.В. Ермолова, Н.Г. Проданчук, І.В. Лепешкін

РАЗРАБОТКА РАСЧЕТНЫХ МОДЕЛЕЙ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ОПАСНОСТИ НЕОНИКОТИНОИДНЫХ ИНСЕКТИЦИДОВ

Методи изучения взаимосвязи "структура-активность" (QSAR) были применены для прогнозирования острой (LD_{50}) и хронической токсичности (NOELchr) нового класса инсектицидов — неоникотиноидов. Как независимые переменные в регрессионной процедуре использованы параметры, описывающие липофильность, квантово-механические характеристики и геометрические особенности отобранных молекул. Получены новые данные о взаимоотношении между токсичностью неоникотиноидов и параметрами, которые могут влиять на процессы токсикодинамики и токсикокінетики. Показатели острой и хронической токсичности (LD_{50} , NOELchr) коррелировали с молекулярной массой, площадью молекул и липофильностью. Полученные взаимосвязи могут быть полезны для более точного определения уровня дозы в остром и хроническом эксперименте при изучении токсичности новых неоникотиноидов.

L. V. Yermolova, M. G. Prodanchuk, I. V. Lepeshkin

DEVELOPMENT CALCULATION MODELS PROGNOSTICATION OF DANGER OF NEONICOTINOIDES INSECTICIDES

Structure-activity relationships (QSAR) have been evaluated for predicting acute (LD_{50}) and chronic toxicity (NOELchr) of new insecticide class- neonicotinoides. As an independent variables in regression procedure we used parameter's describing lipophilicity, quanto-chemical characteristics and geometric peculiarity of selected molecules. We have received new data about relationship between toxicity of neonicotinoides and parameter's what may influence on the toxicodynamic and toxicokinetic process. Acute and chronic toxicities indices (LD_{50} , NOELchr) correlated with molecular mass, shape and volume of molecules and lipophilicity. Obtained relationship may be useful for more accurate selection of dose level in acute and chronic experiment in studies toxicity of new neonicotinoides.