

УДК [615.9:547.26]-074

**ГИГИЕНИЧЕСКОЕ РЕГЛАМЕНТИРОВАНИЕ НОВОГО
РЕГУЛЯТОРА РОСТА РАСТЕНИЙ – ГЕКСИЛОВОГО
ЭФИРА 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ В
ОБЪЕКТАХ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ ЧЕЛОВЕКА**

*Власенко Е.К., Стельмах В.А., Ильюкова И.И.,
Кремко Л.М., Грынчак В.А.*

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический
центр гигиены», г. Минск, Республика Беларусь

**NEW HYGIENIC REGULATION OF PLANT GROWTH
REGULATOR – HEXYLESTER 5-AMINOLEVULINIC ACID
IN THE LENS OF THE HUMAN ENVIRONMENT**

*Vlasenko E.K., Stelmakh V.A., Ilyukova I.I.,
Kremko L.M., Grynychak V.A.*

Republican unitary enterprise «Scientific practical centre of hygiene»,
Minsk, Belarus

Реферат. Проведены токсикологические исследования регулятора роста растений – гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты при различных режимах и путях поступления в опытах на лабораторных животных. В результате исследований определен класс опасности препарата согласно ГОСТ 12.1.007-76, также, установлено, что изученное соединение обладает выраженным раздражающим действием, не способно к индукции признаков раздражения кожных покровов и не обладает трансдермальной и ингаляционной токсичностью, не индуцирует аллергологически значимых проявлений при моделировании гиперчувствительности замедленного типа у белых мышей. По результатам токсиколого-гигиенической оценки обоснован ряд гигиенических регламентов в среде обитания человека.

Ключевые слова: гексиловый эфир 5-аминолевулиновой кислоты, токсичность, гигиенические регламенты.

Summary. Toxicological tests carried out the plant growth regulator – hexyl ester of 5-aminolevulinic acid under different conditions and ways of entering the experiments on laboratory animals. The studies identified hazard class in accordance with GOST 12.1.007-76 drug, also found that the compounds studied has a strong irritative action is not able to induce signs of irritation of the skin and

has no transdermal and inhalation toxicity, does not induce significant Allergic manifestations in modeling delayed-type hypersensitivity in albino mice. According to the results of toxicological and hygienic assessment of a number of justified hygiene regulations in the human environment.

Keywords: hexyl ester of 5-aminolevulinic acid, toxicity, hygienic rules.

Введение. Отечественными учеными Института биоорганической химии НАН Беларуси создан перспективный регулятор роста сельскохозяйственных растений – гексиловый эфир 5-аминолевулиновой кислоты (ГЭ-АЛК). В целях обоснования и проведения мероприятий, направленных на защиту здоровья человека и среды его обитания еще на стадии проектирования производства необходимо выявить закономерности проявления токсических свойств ГЭ-АЛК различных режимах и путях воздействия, а также, обосновать ряд гигиенических регламентов для безопасного производства и дальнейшего его применения в сельском хозяйстве.

Цель исследования: изучить параметры токсичности и на этой основе обосновать гигиенические нормативы содержания ГЭ-АЛК в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе, воде водоемов и почве, установить допустимую суточную дозу поступления препарата в организм человека.

Материал и методы исследования. Эксперименты выполнены на 120 нелинейных белых мышах массой тела 17-23 г, 129 рандомбредных белых крысах, массой тела 180-210 г и на 3 кроликах породы Шиншилла, массой 4,2-4,5 кг. Обращение с животными соответствовало этическим принципам надлежущей лабораторной практики [4]. Водные растворы ГЭ-АЛК получали *ex tempore*; к контрольным группам животных применяли аналогичную схему эксперимента с эквивалентными объемами растворителя (дистиллированной воды).

Острое отравление моделировали однократным введением ГЭ-АЛК в желудок подопытных животных с помощью иглы-зонда (количественные параметры рассчитаны по [2]), кумулятивные эффекты ГЭ-АЛК по методу Lim et al. [3] оценивали на самцах белых мышей. Определение степени опасности отравления при трансдермальном пути поступления,

изучение токсичности при ингаляционном воздействии аэрозоля дезинтеграции, изучение местно-раздражающих свойств, исследование особенностей раздражающего действия на слизистые оболочки глаз, оценку сенсibiliзирующих свойств ГЭ-АЛК проводили согласно инструкции [1].

Результаты исследований обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез был принят $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Основные количественные параметры и характеристики опасности потенциального отравления при однократном внутрижелудочном воздействии ГЭ-АЛК представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Параметры токсичности и потенциальной опасности острого отравления ГЭ-АЛК при однократном внутрижелудочном введении

Вид животных	Величины летальных доз, мг/кг			Показатели потенциальной опасности острого отравления	
	DL ₁₆	DL ₅₀	DL ₈₄	S	R
Мыши, самцы	2540	3000 (2630÷3420)	3540	1,18 (0,99÷1,4)	1,39
Мыши, самки	2470	3170 (2710÷3710)	3900	1,26 (1,13÷1,41)	1,58
Крысы, амцы	6350	8800 (6560÷11800)	12500	1,41 (0,97÷2,0)	1,97
Крысы, самки	4800	7800 (5740÷10600)	12600	1,62 (1,12÷2,35)	2,63

Во время изучения выраженности кумулятивных эффектов ГЭ-АЛК по методу Lim et al. за время опыта отмечена гибель 17 из 20 подопытных мышей. Величина среднесмертельной дозы DL_{50 subchr}, составляет 18250 мг/кг, а величина коэффициента кумуляции (K_{cum}) – 6,1, что свидетельствует о нарастании явлений адаптации животных к токсическому действию ГЭ-АЛК в условиях дозовозрастающего воздействия токсиканта.

Во время изучения токсических свойств ГЭ-АЛК в условиях эпикутанного воздействия в период наблюдения после однократных аппликаций не зарегистрировано проявлений

интоксикации и гибели животных. В пересчете на массу тела подопытных животных экспозиционная доза ГЭ-АЛК составила 800 мг/кг, что является максимально возможной величиной для условий данного эксперимента. Следовательно, средняя смертельная доза при однократном нанесении на кожу животных превышает значения, принятые в качестве классификационных при отнесении веществ к 3 классу – веществам умеренно опасным.

В условиях проведения ингаляционной заправки (максимально достижимая концентрация мелкодисперстного аэрозоля дезинтеграции препарата составила 72,2 мг/м³) и в последующие 14 суток наблюдения после воздействия ГЭ-АЛК гибель животных и признаки интоксикации отсутствовали. Следовательно, в аgravированных условиях моделирования острого ингаляционного отравления достигнута максимально возможная концентрация водного аэрозоля дезинтеграции ГЭ-АЛК, равная 72,2 мг/м³. Исходя из физических свойств, ГЭ-АЛК способен загрязнять воздушную среду только в виде аэрозоля дезинтеграции. Достигнутый уровень воздействия препарата не может быть использован в качестве квалификационного гигиенического критерия для установления класса опасности ГЭ-АЛК при ингаляционном пути поступления.

В процессе изучения местно-раздражающего действия ГЭ-АЛК не выявлены признаки гиперемии и визуально значимые изменения статуса кожных покровов подопытных животных. Суммарная количественная оценка степени индукции эритемы и отека для контроля и опыта при воздействии ГЭ-АЛК составляет по 0 баллов. Следовательно, в условиях, принятых для оценки кожно-раздражающего действия при тестировании на лабораторных животных [1], ГЭ-АЛК не способен к индукции выраженных местно-раздражающих свойств.

Инстилляция ГЭ-АЛК в нижний конъюнктивальный свод правого глаза в течение 1 часа у кроликов приводит к обильному слезотечению, умеренному покраснению сосудов конъюнктивы и отеку век. В результате чего наблюдались проявления блефароспазма (глаз закрыт полностью). Симптомы повреждения слизистых оболочек глаза сохранялись в течение последующих 9 дней наблюдения. Результаты изучения представлены в таблице 2.

Таблица 2. – Количественная оценка ирритативного действия ГЭ-АЛК на слизистые оболочки глаз кроликов

Симптомы повреждения	Характеристика выраженности симптомов	Оценка, баллы
Гиперемия конъюнктивы	Сосуды инъецированы на протяжении 9 суток наблюдения	1
Отек век	Блефароспазм в течение 24 часов после воздействия, проявления отека век исчезают на 5-е сутки наблюдения	4
Выделения из глаза	Количество выделений увлажняет веки и окружающие ткани в 1-е сутки после воздействия, выделения из глаза регистрируются на протяжении 5 суток наблюдения	3

Итоговая классификационная оценка повреждающего действия ГЭ-АЛК по суммации баллов интенсивности каждого из симптомов раздражающего действия на слизистые оболочки глаз (в сумме 8 баллов) позволяет отнести, согласно [1], данное соединение к 3 классу – химическим соединениям, обладающими выраженными ирритативными свойствами. Вызываемый однократной инстилляцией ГЭ-АЛК местный воспалительный процесс патологически характеризуется как серозный блефароконъюнктивит.

Выявление алергизирующих свойств ГЭ-АЛК проводили на седьмые сутки опыта после экспериментальной сенсibilизации в тесте опухания лапы на белых мышах (ТОЛМ). Результатами исследований установлено, что препарат не вызывает развитие у белых мышей гиперчувствительность замедленного типа. Так, абсолютная величина отека лапы у опытных животных статистически значимо не отличалась от контрольных значений. Следовательно, ГЭ-АЛК не обладает сенсibilизирующей способностью при однократном внутрикожном введении, то есть не индуцирует алергологически значимых проявлений в условиях моделирования гиперчувствительности замедленного типа у белых мышей.

В соответствии с поставленной целью проведена токсиколого-гигиеническая оценка ГЭ-АЛК и обоснованы гигиенические нормативы. На первом этапе комплексного

нормирования установлена максимально допустимая суточная доза (ДСД), при определении которой исходили из величины подпороговой дозы, установленной по результатам хронического эксперимента продолжительностью 6 месяцев на белых крысах, с учетом коэффициента запаса. Подпороговая доза ГЭ-АЛК составляет 11 мг/кг (установлена по лимитирующим показателям вредности функционирования центральной нервной системы: изменение поведенческих показателей и суммационно-порогового показателя) с коэффициентом запаса – 100. Исходя из этих данных, на 1 кг массы человека допускается 0,11 мг ГЭ-АЛК или с учетом средней массы 50 кг, максимально допустимое поступление ДСП (суммарное количество препарата, поступающее из разных сред) для человека не должно превышать 5,5 мг/сутки.

Расчет нормативов допустимого содержания ГЭ-АЛК в объектах окружающей среды проводился с использованием физических констант (молекулярный вес 251,75 г/моль, температура плавления 97°С) и основных токсикометрических параметров.

При обосновании норматива ГЭ-АЛК в воде водоемов принимали во внимание его физические свойства и величину ДСД. Для прогноза предельно допустимой концентрации применяли уравнения, отражающие корреляционные связи между этой величиной, установленными токсикологическими параметрами (DL_{50ac}), нормативами в других объектах окружающей среды (воздух рабочей зоны), физическими константами. Подпороговая (максимальная недействующая) концентрация действующего вещества препарата в воде определялась по формуле: $MHK = ДСД \times A \times M / 100 \times N$, где МНК – максимально недействующая концентрация в воде; ДСД – допустимая суточная доза для человека (мг/кг); А – доля препарата, поступающая в организм с водой; М – масса тела человека (кг); N – норма водопотребления человека в течение суток (л). Минимальное расчетное значение ОДУ ГЭ-АЛК – вещества, имеющего санитарно-токсикологический признак вредности, составило 0,1 мг/дм³. Результаты органолептических исследований воды, содержащей ГЭ-АЛК на уровне минимального расчетного значения, показали, что запах при 20°С и 60°С отсутствует.

Расчетная МНК для ГЭ-АЛК составила 0,4 мг/дм³. На основании сопоставления и сравнительной оценки прогнозного значения ОДУ, выводов по результатам органолептических исследований, ориентировочно допустимая концентрация ГЭ-АЛК в воде водоемов установлена по санитарно-токсикологическому критерию вредности на уровне 0,1 мг/дм³. МНК при этом в 4 раза превышает норматив, что свидетельствует в пользу надежности последнего. При данной величине норматива в организм человека с водой может поступить 0,3 мг ГЭ-АЛК, что составит 5,5% от допустимого суточного поступления для человека.

Прогнозные значения ОБУВ в воздухе рабочей зоны в условиях производства и сельскохозяйственного применения ГЭ-АЛК рассчитывали по формулам, предложенным для всех групп пестицидов. Результаты анализа полученных значений показали, что наиболее низкое расчетное значение норматива – 0,8 мг/м³. Исходя из этого целесообразно принять ОБУВ ГЭ-АЛК в воздухе рабочей зоны равный 0,8 мг/м³ (пары+аэрозоль).

Обоснование ориентировочного безопасного уровня воздействия (ОБУВ) ГЭ-АЛК в атмосферном воздухе населенных мест проводили по расчетам, учитывающим молекулярную массу, основные параметры токсичности и величину ОБУВ в.р.з. ОБУВ ГЭ-АЛК в атмосферном воздухе установлен на уровне расчетного значения – 0,01 мг/м³ (преимущественное агрегатное состояние пары+аэрозоль). При данной величине ОБУВ в организм человека с атмосферным воздухом может поступить 0,2 мг ГЭ-АЛК, что составит 3,6% от допустимого суточного поступления для человека.

Расчет ориентировочно допустимой концентрации (ОДК) ГЭ-АЛК в почве проводили по установленной величине допустимой суточной дозы. Полученное минимальное расчетное значение составило 0,3 мг/кг, что позволяет рекомендовать эту величину в качестве ОДК ГЭ-АЛК в почве. По формуле рассчитана концентрация ГЭ-АЛК в почве, которая прогнозируется при максимальной норме расхода препаративной формы: $C = P \times K / 200 = 0,045$, где P – максимальная норма расхода препарата, л/га; K – концентрация ГЭ-АЛК в препарате, %. Следовательно, рассчитанное значение ОДК ГЭ-АЛК в почве 0,3 мг/кг в 6,7 раз выше содержания, прогнозируемого при

максимальной норме расхода препарата (1,5 л/га), что свидетельствует о невозможности превышения гигиенического норматива при соблюдении нормы расхода препарата.

Выводы.

При однократном внутрижелудочном введении среднесмертельная доза DL_{50ac} ГЭ-АЛК для мышей (самцы) составляет 3000 мг/кг (III класс опасности согласно ГОСТ 12.1.007-76). Закономерности проявления токсических свойств ГЭ-АЛК свидетельствуют, что препарат не способен к индукции признаков раздражения кожных покровов и не обладает трансдермальной и ингаляционной токсичностью. ГЭ-АЛК относится к химическим соединениям, обладающим выраженным ирритативным действием (3 класс), вызывая при однократной инстиляции серозный блефароконъюнктивит. ГЭ-АЛК не индуцирует аллергологически значимых проявлений при моделировании гиперчувствительности замедленного типа у белых мышей.

По результатам токсиколого-гигиенической оценки обоснован ряд гигиенических регламентов в среде обитания человека: ориентировочно безопасный уровень воздействия в воздухе рабочей зоны (ОБУВ в.р.з.) – 0,8 мг/м³, ориентировочно безопасный уровень воздействия в атмосферном воздухе (ОБУВ с.с.) – 0,01 мг/м³, ориентировочно допустимый уровень в воде водоемов (ОДУ в воде) – 0,1 мг/дм³, ориентировочно допустимая концентрация в почве (ОДК в почве) – 0,3 мг/кг, а также, допустимая суточная доза (ВДСД, мг/кг м.т.человека) – 0,1 мг/кг.

Литература

1. Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ : инструкция : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 14.12.04. – Минск, 2004. – 43 с.
2. Litcheield, J. T. A simplified method of evaluating dose-effect experiments / J. T. Litcheield, F. H. Wilcoxon // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1949. – № 96(2). – P. 99-113.
3. Lim, R. K. A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses / R. K. Lim, K. G. Rink, H. G. Glass // Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. – 1961. – № 130 (1). – P. 336-353.
4. Guide for the care and use of laboratory animals. Institute of laboratory animal resourcens commission on life sciences research council // National academy press. – Washington, D.C., 1996. – P. 1-128.