

Ю. А. Халилова (к.х.н., с.н.с.)¹, С. Н. Нурланова (асп.)², Е. А. Маракаева (асс.)²,
А. Д. Бадикова (д.х.н., проф., зав.каф.)³, Л. Х. Файзулина (д.х.н., доц., зав.лаб.)¹

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ЛЕВОГЛЮКОЗЕНОНА И ЦИРЕНА

¹ Уфимский институт химии Уфимского федерального исследовательского центра РАН,
лаборатория фармакофорных циклических систем
450054, г. Уфа, пр. Октября, 71; e-mail: sinvmet@anrb.ru

² Башкирский государственный медицинский университет, кафедра фармакологии
450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3; e-mail: AVSamorodov@gmail.com

³ Уфимский государственный нефтяной технический университет,
кафедра физической и органической химии
450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1; e-mail: badikova_albina@mail.ru

Yu. A. Khalilova¹, S. N. Nurlanova², E. A. Marakaeva², A. D. Badikova³, L. Kh. Faizullina¹

STUDY OF TOXICITY OF LEVOGLUCOSENONE AND CYRENE

¹ Ufa Institute of Chemistry of Ufa Federal Research Centre of the RAS
71, Prospekt Oktyabrya Str., 450054, Ufa, Russia; e-mail: sinvmet@anrb.ru

² Bashkir State Medical University
3, Lenina Str., 450008, Ufa, Russia; e-mail: AVSamorodov@gmail.com

³ Ufa State Petroleum Technological University
1, Kosmonavtov Str., 450064, Ufa, Russia; e-mail: badikova_albina@mail.ru

Благодаря уникальной структуре, природному происхождению наряду с доступностью (1S,5R)-6,8-диоксибицикло[3.2.1]окт-2-ен-4-он (левоглюкозенон) и его дигидропроизводное (цирен) являются привлекательными объектами для исследований в различных областях науки. Целью данной работы являлось изучение острой токсичности левоглюкозенона и цирена. Токсикологические исследования проводили на 90 самцах белых мышей при внутрибрюшинном введении веществ в соответствии с общепринятыми рекомендациями, описанными в литературе. Установлено, что согласно классификации химических веществ по параметрам острой токсичности субстанцию цирена можно отнести к III классу токсичности – умеренно токсичному, а субстанцию левоглюкозенона ко II классу опасности.

Ключевые слова: внутрибрюшинное введение; левоглюкозенон; пиролиз; токсичность; цирен.

Работа выполнена по темам «Углеводы в синтезе хиральных карбо- и гетероциклических биологически активных соединений» 122031400259-1 и «Разработка drug-кандидатов с заданной фармакологической активностью среди тиетансодержащих гетероциклов» (№121112500379-2).

Due to the unique structure, natural origin and availability, (1S,5R)-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]oct-2-en-4-one (levoglucosenone) and its dihydro derivative (cyrene) are attractive objects for research in various fields of science. The aim of this work was to study the acute toxicity of levoglucosenone and cyrene. Toxicological studies were conducted on 90 male white mice with intraperitoneal administration of substances in accordance with generally accepted recommendations described in the literature. Thus, according to the classification of chemicals by acute toxicity parameters, the cyrene substance can be classified as toxicity class III – moderately toxic, and the levoglucosenone substance can be classified as hazard class II.

Key words: cyrene; intraperitoneal administration; levoglucosenone; toxicity; pyrolysis.

The work was carried out on the topics «Carbohydrates in the synthesis of chiral carbo- and heterocyclic biologically active compounds» 122031400259-1 and «Development of drug candidates with a given pharmacological activity among thietane-containing heterocycles» (No.121112500379-2).

Дата поступления 21.08.24

Результаты и обсуждение

Получаемый пиролизом целлюлозосодержащих материалов левоглюкозенон (рис. 1) заявил себя как биовозобновляемая платформа в тонком органическом синтезе. На его основе разработаны методики синтеза различных биологически активных соединений и их аналогов^{1–4}. Благодаря уникальной структуре, доступности и растворимости в большинстве органических растворителей, а также в воде, интерес к левоглюкозенону не угасает, о чем свидетельствует тот факт, что в Австралии компания *Circa* занимается масштабным производством левоглюкозенона и его дигидропроизводного (цирена).

Учитывая природное происхождение в последнее время растет число публикаций по использованию левоглюкозенона и цирена в «зеленой» химии в качестве диполярного⁵, стабильного⁶, наноструктурированного⁷, универсального^{8–10} растворителя на биологической основе. Наряду с этим учеными обнаруживаются все новые превращения и биологические активности как самого левоглюкозенона, так и его производных^{11–15}. Тем не менее, данные по токсичности левоглюкозенона и цирена в научной литературе отсутствуют. В связи с этим в продолжение наших исследований исследований была изучена их токсичность.

Материалы и методы исследования

Для проведения эксперимента левоглюкозенон и цирен, полученные в нашей лаборатории, были очищены колоночной хроматографией на силикагеле Macherey-Nagel 60 (размер частиц 0.063–0.2 мм) и системой петролейный эфир:этилацетат (7:1). Для аналитической ТСХ использовали пластины Sorbfil марки ПТСХ-АФ-А, изготовитель ЗАО «Сорбполимер» (Краснодар).

Вся экспериментальная работа выполнена на кафедре фармакологии с курсом клинической фармакологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России в соответствии с рекомендациями «Руководства по доклиническому изучению новых фармакологических веществ»¹⁶.

Проведение токсикологических исследований проведено на 90 самцах белых мышах в возрас-

те 2 месяцев со средней массой тела 20–21 г при внутрибрюшинном способе введения. Животные прошли карантин в течение 14 дней в условиях отдельного бокса вивария ЦНИЛ БГМУ. Температурный режим помещения вивария поддерживался от +18 до +22 °С. Освещение вивария совмещенное (естественное и люминисцентное). Ежедневно в помещении вивария проводилась 20 мин бактерицидная обработка стационарным настенным бактерицидным облучателем. Животные имели круглосуточный свободный доступ к поилкам, получали набор натуральных продуктов (овощи, зерно) и стандартную диету, представленную в виде экструдированного гранулированного корма для содержания лабораторных животных (мышей, крыс, хомяков) соответствующий Декларации о соответствии № РОСС RU. ПР 98, Д 00497 до 07.02.2016 г. и содержащий в своем составе пшеницу, ячмень, шрот соевый, муку рыбную, дрожжи, отруби, а также витамины и минеральные вещества, витаминно-минеральный комплекс, растительный жир, антиоксидант.

Исследования выполнялись в соответствии правилами лабораторной практики (GLP), со статьей 11 Федерального закона от 12 апреля 2010 г. №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» и «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (2012).

При проведении исследований на белых беспородных мышах при внутрибрюшинном введении цирен исследовали в дозах 100, 300, 500 мг/кг, а левоглюкозенон в дозах 1, 10, 50, 100, 200 мг/кг. Количество вводимого вещества рассчитывали по объему введенного раствора в зависимости от массы тела с учетом максимально допустимого количества жидкости. Контрольная (интактная) группа животных включена в эксперимент для проведения сравнительной оценки состояния и поведения этих особей и подопытных животных. Данная группа животных по окончании первых суток наблюдений исключалась из эксперимента. Наблюдение за опытными группами проводилось в течение 14 сут.

Величину LD₅₀ вычисляли методом пробит-анализа с использованием программы BioStat 5.9 (AnalystSoft Inc.).

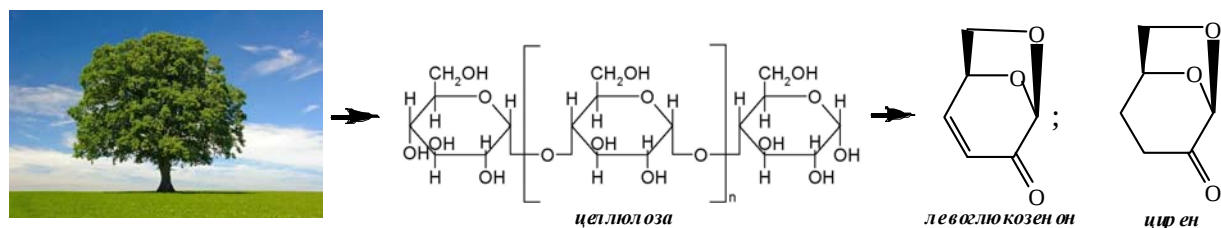


Рис.1. Получение левоглюкозенона

Результаты и их обсуждение

Показатели острой токсичности при внутрибрюшинном введении мышам левоглюкозенона и цирена представлены в табл. 1.

Таблица 1

Показатели токсичности
левоглюкозенона и цирена

Шифр	Левоглюкозенон	Цирен
LD ₅₀ , мг/кг	46.8	>500

При внутрибрюшинном введении мышам цирена было установлено, что введение вещества в дозах от 100 до 500 мг/кг не вызывало гибели животных. Состояние животных соответствовало норме, изменений в поведении не зарегистрировано. Принимая во внимание отсутствие эффектов в максимально возможной в данном эксперименте дозировке, отмечаем, что LD₅₀ находится за пределами 500 мг/кг.

При внутрибрюшинном введении левоглюкозенона в дозировках 1 и 10 мг/кг гибель мышей не регистрировалась. При увеличении дозы до 50 мг/кг состояние животных было заторможенным, реакция на звуковые и тактильные раздражения сохранялась, в течение 20 мин после введения вещества отмечалась гибель 40% животных. При увеличении доз до 100 и 200 мг/кг в первые минуты после введения вещества отмечались тонические судороги, спазмы мышц брюшной полости и гибель 100% мышей.

При наблюдении за выжившими мышами в последующие дни после введения вещества изменений в поведении не было отмечено. Мыши активно передвигались в клетке, реагировали на звуковые и тактильные раздражители. Отсроченной гибели не зарегистрировано.

На рис. 1 представлена зависимость количества погибших мышей в течение 14 сут от дозы ле-

воглюкозенона, выраженной в мг/кг, после однократного внутрибрюшинного введения вещества. Линия тренда аппроксимации и сглаживания кривой острой токсичности левоглюкозенона при введении мышам внутрибрюшинно имеет прямую зависимость.

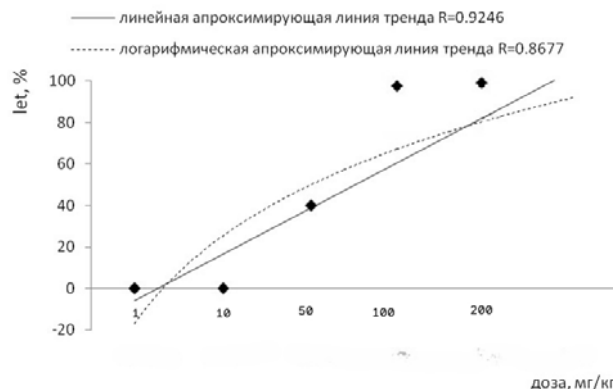


Рис. 1. Гибель мышей через 14 сут после однократного внутрибрюшинного введения вещества левоглюкозенона

При макроскопическом исследовании мышей, погибших после внутрибрюшинного введения вещества, установлено, что анатомический рисунок органов сохранен. Головной мозг и внутренние органы брюшной полости без изменения. Легкие темного цвета, множественные диафизные кровоизлияния в обеих долях легкого. Печень полнокровна. Видимых изменений в желудке не наблюдалось, складчатость желудка стерта.

Таким образом, исходя из величин острой токсичности (LD₅₀) при внутрибрюшинном пути введения, согласно классификации химических веществ по параметрам острой токсичности субстанцию цирена можно отнести к 3 классу (умеренно-токсичные вещества), а субстанцию левоглюкозенона — ко 2 классу опасности.

Литература

1. Мифтахов М.С., Валеев Ф.А., Гайсина И.Н. Левоглюкозенон: свойства, реакции и использование в тонком синтезе // Успехи химии.— 1993.— Т.62, №10.— С.922-936.
2. Levoglucosenone and Levoglucosans: Chemistry and Applications / Ed. Witczak, Z. J.— ATL Press, Science Publishers, Mount Prospect, IL, 1994.
3. Sarotti A.M., Zanardi M., Spanevello R.A. Recent applications of levoglucosenone as chiral synthon // Curr. Org. Synth.— 2012.— V.9.— Pp.439-459.
4. Comba M.B., Tsai Y., Sarotti A.M., Mangione M.I., Suarez A.G., Spanevello R.A. Levoglucosenone and its new applications: valorization of cellulose residues // Eur. J. Org. Chem.— 2018.— Pp.590-604.
5. Sherwood J., De Bruyn M., Constantinou A., Moity L., Mc Elroy C.R., Farmer T.J., Duncan T., Raverty W., Hunta A.J., Clark J.H. Dihydrolevoglucosenone

References

1. Miftakhov M.S., Valeev F.A., Gaysina I.N. *Levoglucosenone: svoystva, reaktsii i ispol'zovaniye v tonkom sinteze* [Levoglucosenone: properties, reactions and use in fine synthesis]. *Uspekhi khimii* [Advances in Chemistry], 1993, vol. 62, no10. pp. 922-936.
2. Levoglucosenone and Levoglucosans: Chemistry and Applications, ed. Witczak, Z. J. ATL Press, Science Publishers, Mount Prospect, IL.1994.
3. Sarotti A.M., Zanardi M., Spanevello R.A. [Recent applications of levoglucosenone as chiral synthon]. *Curr. Org. Synth.*, 2012, vol.9, pp.439-459.
4. Comba M.B., Tsai Y., Sarotti A.M., Mangione M.I., Suarez A.G., Spanevello R.A. [Levoglucosenone and its new applications: valorization of cellulose residues]. *Eur. J. Org. Chem.*, 2018, pp.590-604.
5. Sherwood J., De Bruyn M., Constantinou A., Moity L., Mc Elroy C.R., Farmer T.J., Duncan T., Raverty W.,

- (Cyrene) as a bio-based alternative for dipolar aprotic solvents // *Chem. Commun.* – 2014. – V.50. – Pp.9650-9652.
6. Stini N.A., Gkizis P.L., Kokotos C.G. Cyrene: a bio-based novel and sustainable solvent for organic synthesis // *Green Chem.* – 2022. – V.24. – Pp.6435-6449.
 7. De Bruyn M., Budarin V.L., Misefari A., Shimizu S., Fish H., Cockett M., Hunt A.J., Hofstetter H., Weckhuysen B.M., Clark J.H., Macquarrie D.J. Geminal Diol of Dihydrolevoglucosenone as a Switchable Hydrotrope: A Continuum of Green Nanostructured Solvents // *ACS Sustainable Chem. Eng.* – 2019. – V.7. – Pp.7878-7883.
 8. Bousfield T.W., R. Pearce K.P., Nyamini S.B., Angelis-Dimakis A., Camp J.E. Synthesis of amides from acid chlorides and amines in the bio-based solvent Cyrene // *Green Chem.* – 2019. – V.21. – Pp.3675-3681.
 9. Marino T., Galiano F., Molino A., Figoli A. New frontiers in sustainable membrane preparation: Cyrene™ as green bioderived solvent // *Journal of Membrane Science.* – 2019. – V.580. – Pp.224-234.
 10. Ray P., Hughes T., Smith C., Hibbert M., Saito K., Simon G.P. Development of bio-acrylic polymers from Cyrene™: transforming a green solvent to agreeen polymer // *Polym. Chem.* – 2019. – V.10. – Pp.3334-3341.
 11. Faizullina L.Kh., Khalilova Yu.A., Valeev F.A., Pavlov V.N., Samorodov A.V. Preparation of the adduct of levoglucosenone and resorcinol and its *in vitro* antiplatelet and anticoagulant activity // *Chemistry of heterocyclic compounds.* – 2021. – V.57, №9. – Pp.966-969.
 12. Sharipov B.T., Davydova A.N., Ryabova A.S., Galimzyanova N.F., Valeev F.A. Synthesis and fungicidal activity of methylsulfanylmethyl ether derivatives of levoglucosenone // *Chemistry of Heterocyclic Compounds.* – 2019. – V.55. – Pp.31-37.
 13. Giri G.F., Danielli M., Marinelli R.A., Spanevello R.A. Cytotoxic effect of levoglucosenone and related derivatives against human hepatocarcinoma cell lines // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2016. – V.26. – Pp.3955-3957.
 14. Файзуллина Л. Х., Халилова Ю.А., Бадикова А.Д., Рябова А. С., Галимзянова Н. Ф., Валиуллина З.А., Самородов А.В., Валеев Ф.А. Биологическая активность α -диеновых производных цирена // *Баш. хим. ж.* – 2021. – Т.30, №3. – С.42-47.
 15. Насибуллина Р.А., Якупова Л.Р., Карамышева Л.Ш., Файзуллина Л.Х., Валеев Ф.А., Сафиуллин Р.Л. Антиоксидантные свойства (1R,9R,10R,13S)-4,5-диметил-8,11,15-триоксатетрацикло[7.4.1.110,-13.02,7]пентадека-2,4,6-триен-9-ола // *Вестник Томского Университета.* – 2023. – №31. – С.42-51.
 16. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч.1. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
 - Hunta A.J., Clark J.H. [Dihydrolevoglucosenone (Cyrene) as a bio-based alternative for dipolar aprotic solvents]. *Chem. Commun.*, 2014, vol.50, pp.9650-9652.
 6. Stini N.A., Gkizis P.L., Kokotos C.G. [Cyrene: a bio-based novel and sustainable solvent for organic synthesis]. *Green Chem.*, 2022., vol.24, pp. 6435-6449.
 7. De Bruyn M., Budarin V.L., Misefari A., Shimizu S., Fish H., Cockett M., Hunt A.J., Hofstetter H., Weckhuysen B.M., Clark J.H., Macquarrie D.J. [Geminal Diol of Dihydrolevoglucosenone as a Switchable Hydrotrope: A Continuum of Green Nanostructured Solvents]. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 2019, vol. 7, pp.7878-7883.
 8. Bousfield T.W., R. Pearce K.P., Nyamini S.B., Angelis-Dimakis A., Camp J.E. [Synthesis of amides from acid chlorides and amines in the bio-based solvent Cyrene]. *Green Chem.*, 2019, vol.21, pp.3675-3681.
 9. Marino T., Galiano F., Molino A., Figoli A. [New frontiers in sustainable membrane preparation: Cyrene™ as green bioderived solvent]. *Journal of Membrane Science*, 2019, vol. 580, pp.224-234.
 10. Ray P., Hughes T., Smith C., Hibbert M., Saito K., Simon G.P. [Development of bio-acrylic polymers from Cyrene™: transforming a green solvent to agreeen polymer]. *Polym. Chem.*, 2019, vol. 10, pp. 3334-3341.
 11. Faizullina L.Kh., Khalilova Yu.A., Valeev F.A., Pavlov V.N., Samorodov A.V. [Preparation of the adduct of levoglucosenone and resorcinol and its *in vitro* antiplatelet and anticoagulant activity]. *Chemistry of heterocyclic compounds*, 2021, vol.57, №9, pp.966-969.
 12. Sharipov B.T., Davydova A.N., Ryabova A.S., Galimzyanova N.F., Valeev F.A. [Synthesis and fungicidal activity of methylsulfanylmethyl ether derivatives of levoglucosenone]. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 2019, vol.55, pp.31-37.
 13. Giri G.F., Danielli M., Marinelli R.A., Spanevello R.A. [Cytotoxic effect of levoglucosenone and related derivatives against human hepatocarcinoma cell lines]. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2016, vol.26, pp.3955-3957.
 14. Faizullina L.Kh., Khalilova Yu.A., Badikova A.D., Ryabova A.S., Galimzyanova N.F., Valiullina Z.A., Samorodov A.V., Valeev F.A. *Biologicheskaya aktivnost' α -dienovykh proizvodnykh tsirena* [Biological activity of α -diene derivatives of cyrene]. *Bashkirskii khimicheskii zhurnal* [Bashkir Chemical Journal], 2021, vol.30, no.3, pp.42-47.
 15. Nasibullina R.A., Yakupova L.R., Karamysheva L.Sh., Fajzullina L.H., Valeev F.A., Safiullin R.L. *Antioksidantnye svoystva (1R,9R,10R,13S)-4,5-dimetil-8,11,15-trioksatetraciklo[7.4.1.110,13.02,7]-penta-deka-2,4,6-trien-9-ola* [Antioxidant properties of (1R,9R,10R,13S)-4,5-dimethyl-8,11,15-trioxatetracyclo[7.4.1.110,13.02,7]pentadeca-2,4,6-trien-9-ol]. *Vestnik Tomskogo Universiteta* [Bulletin of Tomsk University], 2023, no.31, pp.42-51.
 16. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Ch.1* [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part 1]. Moscow, Grif i K Publ., 2012, 944 p.