

ТОКСИЧНОСТЬ ДИАЛКИЛДИСУЛЬФИДОВ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ *IN VIVO*С. А. Кучерской^{1,2} ✉, Л. А. Аликбаева²¹ Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия² Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

В результате промышленной очистки углеводородного сырья от меркаптанов ежегодно накапливаются десятки тысяч тонн диалкилдисульфидов и их смесей, токсичность и опасность которых в полной мере не изучена. Гигиенические нормативы разработаны только для диметилдисульфида. Целью исследования было установить параметры токсикометрии для диэтилдисульфида, «дисульфидного масла» и смеси диалкилдисульфидов. В токсикологических исследованиях на самцах беспородных крыс установлены среднесмертельные дозы и концентрации: диэтилдисульфида — при внутривенном введении $DL_{50} = 1575$ мг/кг, при ингаляционном 4-часовом воздействии $CL_{50} = 18\,700$ мг/м³, при внутривенном введении $DL_{50} = 1134$ мг/кг, при накожном нанесении $DL_{50} > 2500$ мг/кг; смеси диалкилдисульфидов — при внутривенном введении $DL_{50} = 428$ мг/кг, при ингаляционном 4-часовом воздействии $CL_{50} = 4510$ мг/м³, при внутривенном введении $DL_{50} = 212$ мг/кг, при накожном нанесении $DL_{50} > 2500$ мг/кг; дисульфидного масла — при внутривенном введении $DL_{50} = 448$ мг/кг, при ингаляционном 4-часовом воздействии $CL_{50} = 4534$ мг/м³, при внутривенном введении $DL_{50} = 156$ мг/кг, при накожном нанесении $DL_{50} > 2500$ мг/кг. Проведена оценка опасности диалкилдисульфидов и их смесей.

Ключевые слова: диалкилдисульфид, диметилдисульфид, диэтилдисульфид, метилэтилдисульфид, дисульфидное масло, острая токсичность, LD_{50} , LC_{50} , класс опасности

Благодарности: И. Е. Шкаевой — ведущему научному сотруднику НИИ ГПЭЧ ФМБА России за руководство при выполнении исследований. А. И. Николаеву — ведущему научному сотруднику НИИ ГПЭЧ ФМБА России за помощь в математической обработке результатов исследования.

Вклад авторов: С. А. Кучерской — проведение токсикологических исследований; Л. А. Аликбаева — общее руководство.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом СЗГМУ им. И. И. Мечникова (протокол № 8 от 11 ноября 2020 г.); условия содержания и уход за животными соответствовали нормативам СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)», а также требованиям руководства «Guide for Care and Use of Laboratory Animals» (USA).

✉ **Для корреспонденции:** Семен Александрович Кучерской
ст. Капитолово, корп. № 93, г. п. Кузьмоловский, Всеволожский район, Ленинградская область, 188663; kucherskoi@gpech.ru

Статья получена: 29.05.2021 **Статья принята к печати:** 15.06.2021 **Опубликована онлайн:** 25.06.2021

DOI: 10.47183/mes.2021.015

IN VIVO TOXICITY STUDY OF DIALKYL DISULPHIDESKucherskoy SA^{1,2} ✉, Alikbaeva LA²¹ Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the Federal Medical Biological Agency, St. Petersburg, Russia² North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

As a result of the industrial purification of hydrocarbons from mercaptans, tens of thousands of tons of dialkyl disulphides and their mixtures, the toxicity and hazard of which has not been fully understood, are accumulated annually. The exposure standards have been developed only for dimethyl disulphide. The study was aimed to define toxicometry parameters for diethyl disulphide, disulphide oil, and the mixture of dialkyl disulphides. Toxicology studies involving male outbred rats made it possible to define the median lethal doses and concentrations: diethyl disulphide — after intragastric injection $DL_{50} = 1575$ mg/kg, after the 4-hour inhalation exposure $CL_{50} = 18,700$ mg/m³, after intraperitoneal injection $DL_{50} = 1134$ mg/kg, and after skin application $DL_{50} > 2500$ mg/kg; mixture of dialkyl disulphides — after intragastric injection $DL_{50} = 428$ mg/kg, after the 4-hour inhalation exposure $CL_{50} = 4510$ mg/m³, after intraperitoneal injection $DL_{50} = 212$ mg/kg, and after skin application $DL_{50} > 2500$ mg/kg; disulphide oil — after intragastric injection $DL_{50} = 448$ mg/kg, after the 4-hour inhalation exposure $CL_{50} = 4534$ mg/m³, after intraperitoneal injection $DL_{50} = 156$ mg/kg, and after skin application $DL_{50} > 2500$ mg/kg. The hazard assessment for dialkyl disulphides and their mixtures was performed.

Keywords: dialkyl disulphides, dimethyl disulphide, diethyl disulphide, methylethyl disulphide, disulphide oil, acute toxicity, LD_{50} , LC_{50} , hazard class

Acknowledgements: we would like to thank Shkaeva IE, the leading researcher at the Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the FMBA, for study management, and Nikolaev AI, the leading researcher at the Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the FMBA, for assistance in mathematical processing of the results.

Author contribution: Kucherskoy SA — conducting toxicology studies; Alikbaeva LA — overall management.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (protocol № 8 dated November 11, 2020); laboratory animals were kept and fed in accordance with SP 2.2.1.3218-14 "Sanitary and Epidemiological Requirements for the Device, Equipment and Maintenance of Experimental Biological Clinics (Vivariums)", as well as with the «Guide for Care and Use of Laboratory Animals» (USA).

✉ **Correspondence should be addressed:** Semen A. Kucherskoy
Kapitolovo, str. 93, r. p. Kuzmolovsky, Vsevolozhsky r., Leningradskaya obl., 188663; kucherskoi@gpech.ru

Received: 29.05.2021 **Accepted:** 15.06.2021 **Published online:** 25.06.2021

DOI: 10.47183/mes.2021.015

В результате очистки углеводородного сырья от меркаптанов ежегодно образуются десятки тысяч тонн диалкилдисульфидов и их смесей [1]. Диалкилдисульфиды применяют в нефтяной промышленности в качестве ингибиторов коксообразования в печах пиролиза и сульфидирующих агентов катализаторов гидроочистки и гидрокрекинга. В сельском хозяйстве диалкилдисульфиды

применяют в качестве инсектицидов, в пищевой промышленности — в качестве ароматизаторов [2–7]. Несмотря на широкое применение диалкилдисульфидов в промышленности, гигиенические нормативы диэтилдисульфидов, метилэтилдисульфидов и дисульфидного масла не установлены. В целях гигиенического регламентирования и оценки опасности данных соединений

нами были проведены токсикологические исследования воздействия диалкилдисульфидов в остром эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Токсичность диалкилдисульфидов изучали в условиях однократного и повторного воздействия на беспородных самцов крыс с начальной массой тела 220–250 г и самцов мышей 20–25 г («ПЛЖ «Рапполово»; Ленинградская область). Партии прибывших животных имели ветеринарную справку с указанием возраста и среднего веса животных, отсутствия общих заболеваний и паразитарных инвазий. Животные поступали в карантинное отделение вивария, где проходили адаптацию в течение 14 дней. Содержали животных в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде. В течение этого периода проводили ежедневный осмотр каждого животного (поведение, общее состояние, заболеваемость и смертность). Перед началом исследования животные, отвечающие критериям включения в эксперимент, были распределены на группы с помощью метода рандомизации, не соответствующих критериям исключали из опытов. Ежедневно в помещении контролировали воздухообмен, температуру и влажность воздуха. Температуру воздуха поддерживали в пределах 20–24 °С, относительную влажность — 50–70%, воздухообмен — 10 объемов в час, световой режим — 12 ч. Эвтаназию осуществляли в CO₂-камерах.

Для экспериментальных исследований животных распределяли по массе тела на однородные группы по 8–10 особей, маркировку лабораторных животных соблюдали индивидуальную.

Острую токсичность диалкилдисульфидов определяли при внутрижелудочном, внутривенном, подкожном и ингаляционном путях поступления [8].

Исследуемые вещества:

- диэтилдисульфид (далее ДЭДС), содержащий не менее 99 массовой доли, % основного вещества и примеси диметилдисульфида — не менее 1 массовой доли, %;
- дисульфидное масло (далее ДСМ), содержащее диметилдисульфид — 75,14 массовой доли, %; диэтилдисульфид — 2,08 массовой доли, %; метилэтилдисульфид — 21,69 массовой доли, %; высшие диалкилдисульфиды C₄-C₈S₂H₁₀-H₂₂ ≈ 1%.
- смесь диалкилдисульфидов, содержащая ДМДС —

26,4 массовой доли, %; МЭДС — 53,0 массовой доли, %; ДЭДС — 20,7 массовой доли, %;

Физико-химические свойства диалкилдисульфидов представлены в табл. 1.

Внутрижелудочное введение веществ (в дозах 75–2000 мг/кг) осуществляли с помощью атравматичного зонда, в качестве растворителя использовали растительное масло.

Моделирование ингаляционного воздействия проводили в камерах объемом 600 дм³. Подопытных животных подвергали воздействию паров диалкилдисульфидов в следующих концентрациях: диэтилдисульфид 10 000–22 000 мг/м³; дисульфидное масло 4000–5000 мг/м³; смесь ДАДС 3800–6000 мг/м³. Время экспозиции при однократном ингаляционном воздействии для крыс — 4 ч, для мышей — 2 ч.

Контроль за содержанием паров веществ в воздушной среде затравочных камер проводили газохроматографическим методом с пламенно-ионизационным детектированием.

Срок наблюдения при проведении острых экспериментов — 14 суток после воздействия веществ. Оценивали общее состояние животных, поведение, внешний вид, реакцию на внешние раздражители. Регистрировали клиническую картину отравления. После окончания срока наблюдения проводили некропсию, макроскопические исследования внутренних органов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Внутрижелудочное введение смеси ДАДС и ДСМ вызывает гибель животных в основном в течение первых суток от отека легких. Внутрижелудочное введение ДЭДС вызывало гибель животных, отсроченную до 7 суток. Клиническая картина острой интоксикации от действия диалкилдисульфидов была схожей и характеризовалась гипо- и адинамией подопытных животных, а также снижением частоты дыхания. При макроскопической оценке внутренних органов погибших животных выявлены бурая индурация легких и кровоизлияния в легких, пенистые выделения из трахеи, темно-коричневый окрас селезенки и почек, на поверхности печени обнаружена мелкая бугристость.

Выжившие после острой интоксикации животные по внешнему виду не отличались от контрольных на протяжении всего периода наблюдения.

Таблица 1. Физико-химические свойства представленных образцов диалкилдисульфидов

Показатель	Диалкилдисульфиды		
	ДМДС	МЭДС	ДЭДС
Химическая формула	CH ₃ SSCH ₃	CH ₃ SSC ₂ H ₅	C ₂ H ₅ SSC ₂ H ₅
№ CAS	624-92-0	20333-39-5	110-81-6
Внешний вид	Прозрачная, светло-желтая жидкость	Маслянистая жидкость	Маслянистая жидкость
Молекулярная масса, г/моль	94,2	108,23	122,25
Плотность, г/см ³	1,057	1,022	0,993
Температура кипения, °С	109,7	131,6	154,1
Показатель преломления	1,5259	1,5146	1,506
Содержание серы, % мас.	68,09	59,26	52,46
Растворимость			
Вода	нерастворим	нерастворим	трудно растворим
Диэтиловый эфир	растворим	растворим	смешивается
Этанол	растворим	растворим	смешивается

Примечание: ДМДС — диметилдисульфид; МЭДС — метилэтилдисульфид; ДЭДС — диэтилдисульфид.

Таблица 2. Параметры острой токсичности диалкилдисульфидов при внутрижелудочном введении

Вид животных	Летальные дозы, мг/кг		
	LD ₁₆	LD ₅₀	LD ₈₄
	Диэтилдисульфид		
Мыши-самцы	942	1565 ± 370	2601
Крысы-самцы	1384	1575 ± 91	1793
Смесь ДАДС			
Мыши-самцы	244	435 ± 118	775
Крысы-самцы	307	428 ± 83	597
Дисульфидное масло			
Мыши-самцы	276	381 ± 56	527
Крысы-самцы	265	448 ± 142	759

По параметрам острой токсичности при внутрижелудочном введении изучаемые диалкилдисульфиды относятся к умеренно опасным веществам (3-й класс опасности [10]). ДЭДС относится к 4 классу опасности, смесь ДАДС и дисульфидное масло — к 3 классу опасности [11] (табл. 2).

О малой опасности изучаемых соединений свидетельствуют коэффициенты видовых различий (КВР):

ДЭДС КВР: $1575/1565 = 1,006$.

Смесь ДАДС КВР: $428/435 = 0,98$.

ДСМ КВР: $448/381 = 1,17$.

При внутрибрюшинном введении крысам диалкилдисульфидов установлены параметры острой токсичности (табл. 3), свидетельствующие об умеренной опасности этих соединений.

При внутрибрюшинном введении смеси ДАДС и ДСМ у подопытных животных в течение 5 мин наступала адинамия, снижалась частота дыхательных движений. Гибель наступала через 30–60 мин после введения веществ в результате остановки дыхания.

При внутрибрюшинном введении ДЭДС подопытные животные в течение часа были заторможены, не реагировали на внешние раздражители. Через 4–5 ч животные внешне не отличались от контрольных. Гибель наступала в первые сутки наблюдения после введения ДЭДС от отека легкого.

Макроскопическая картина внутренних органов не отличалась от таковой при внутрижелудочном введении.

По параметрам острой токсичности при ингаляционном воздействии смесь ДАДС и дисульфидное масло относят ко 2-му [10] и к 3-му [11] классам опасности. ДЭДС по величине CL_{50} относится к 3-му [10] и к 4-му [11] классам опасности (табл. 4).

Существенных видовых различий при остром ингаляционном отравлении диалкилдисульфидами не выявлено.

Коэффициент возможного ингаляционного отравления (КВИО_{ас}) свидетельствует о малой опасности при однократном ингаляционном воздействии ДЭДС (КВИО_{ас} = $24999,3/18700 = 1,33$) и умеренной опасности смеси ДАДС

(КВИО_{ас} = $74004,5/4534 = 16,3$) и дисульфидного масла (КВИО_{ас} = $105336,5/4510 = 23,3$).

Клиническая картина острого ингаляционного отравления парами диалкилдисульфидов характеризовалась гипо- и адинамией подопытных животных, проявлениями гипоксии (умеренно выраженный цианоз мордочек и лапок), расстройством дыхания. Периоды снижения двигательной активности животных сменялись периодами ее увеличения. Гибель животных при воздействии смеси ДАДС и ДСМ наступала во время экспозиции или в течение суток после ингаляционного воздействия от отека легких; при воздействии ДЭДС гибель наступала преимущественно на 3–5-е сутки наблюдения. Макроскопическая картина внутренних органов не отличалась от таковой при внутрижелудочном введении.

Выжившие животные при наблюдении в течение 14 суток после воздействия по внешнему виду и поведению не отличались от контрольных.

Установлено, что смесь ДАДС и ДСМ вызывают частичную гибель мышей в течение двухчасовой экспозиции 2/3 длины хвостов в пробирках с веществами, при этом ДЭДС не вызывал гибель подопытных мышей.

При кожном воздействии на подопытных крыс установлены следующие среднесмертельные дозы (DL_{50}): для смеси ДАДС — 7400 (5690; 9620) мг/кг, для ДСМ — 3400 (2345; 4930) мг/кг. По величине среднесмертельных доз исследуемые вещества при кожном пути поступления относятся к 4-му классу опасности [10]. Накожная аппликация ДЭДС в течение 4 ч не вызывала гибель подопытных крыс. Проявлений местного раздражающего действия на кожу не отмечено. Клиническая картина острого отравления у подопытных животных при кожном воздействии диалкилдисульфидами не отличалась от таковой при внутрижелудочной интоксикации.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют об опасности веществ при контакте с кожей.

После однократного нанесения одной капли изучаемых веществ на слизистую оболочку глаза крысы регистрировали проявления раздражающего действия в виде гиперемии. Через 1–2 суток гиперемия исчезала, и при

Таблица 3. Параметры острой токсичности диалкилдисульфидов при однократном внутрибрюшинном введении крысам-самцам (n = 10)

Вещества	Летальные дозы, мг/кг		
	LD ₁₆	LD ₅₀	LD ₈₄
Диэтилдисульфид	1384	1575 ± 91	1793
Смесь ДАДС	187	212 ± 11	240
Дисульфидное масло	98	156 ± 33	248

Таблица 4. Параметры острой токсичности диалкилдисульфидов при однократном ингаляционном воздействии

Вид животных	Летальные концентрации, мг/м ³		
	CL ₁₆	CL ₅₀	CL ₈₄
Диэтилдисульфид			
Мыши-самцы	17 630	18125 ± 515	19 930
Крысы-самцы	17 800	18700 ± 556	19 730
Смесь ДАДС			
Мыши-самцы	3900	4200 ± 190	4750
Крысы-самцы	3300	4534 ± 519	5120
Дисульфидное масло			
Мыши-самцы	3900	4200 ± 180	4700
Крысы-самцы	4400	4510 ± 60	4600

дальнейшем наблюдении подопытные крысы по внешнему виду и динамике массы тела не отличались от контрольных.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты по острой токсичности при пероральном пути введения отличаются от представленных в литературе данных [5] в 3 раза, что может свидетельствовать о другом составе дисульфидного масла, использовании других видов подопытных животных либо использовании другого растворителя для введения в желудок. Однако данные по ингаляционной токсичности схожи с результатами, полученными в нашем исследовании: CL₅₀ 4840 мг/м³ и 4534 мг/м³ соответственно.

ВЫВОДЫ

В результате проведенных экспериментальных исследований установлены параметры острой токсичности при внутрижелудочном и ингаляционном воздействии: для ДЭДС DL₅₀ — 1575 мг/кг, CL₅₀ — 18700 мг/м³; для смеси ДАДС DL₅₀ — 448 мг/кг, CL₅₀ = 4510 мг/м³; для ДСМ DL₅₀ — 428 мг/кг, CL₅₀ = 4534 мг/м³. При накожном

воздействии среднесмертельная доза (DL₅₀) для смеси ДАДС составила 7400 мг/кг, для ДСМ — 3400 мг/кг, ДЭДС не вызывает гибели при попадании на кожу. Полученные данные свидетельствуют о том, что диалкилдисульфиды относятся к веществам, представляющим умеренную опасность при однократном внутрижелудочном, ингаляционном и накожном путях поступления в организм. Сравнительная оценка токсичности изучаемых веществ с диметилдисульфидом (далее ДМДС) показала, что по параметрам токсикометрии ДЭДС менее токсичен, чем ДМДС при внутрижелудочном введении приблизительно в 9 раз, а при однократном ингаляционном воздействии — в 3 раза. Сравнительное исследование смеси ДАДС и ДСМ с ДМДС выявило близкую токсичность при ингаляционном воздействии. При внутрижелудочном введении смесь ДАДС и дисульфидное масло в 2 раза менее токсичны, чем ДМДС. При сравнении токсичности ДСМ и смеси ДАДС показано, что наличие примесей не влияет на токсикометрические параметры. Данные токсикометрические параметры будут использованы для определения класса опасности и разработки гигиенических нормативов содержания диалкилдисульфидов. В настоящее время нормативы разработаны только для диметилдисульфида.

Литература

1. Рахимов Т. Х. Совершенствование процесса первичной переработки нефти и газового конденсата с получением серосодержащих соединений и углеводородов [диссертация]. Уфа, 2020.
2. Мещак Н. М., Бенеманский В. В. Оценка биологического действия диметилдисульфида с учетом специфических отдаленных эффектов. Бюллетень ВШНЦ СО РАМН. 2005; 2: 209–12.
3. Юркевич Е. С., Присмотров Ю. А. Научное обоснование ориентировочно безопасного уровня воздействия диметилдисульфида в воздухе рабочей зоны. Здоровье и окружающая среда. 2009; 13: 515–21.
4. Обзор рынка дисульфидного масла в России. М.: Инфолайн, 2012; 107 с.
5. Morgott D, Lewis C, Bootman J, Banton M. Disulfide oil hazard assessment using categorical analysis and a mode of action determination. Int J Toxicol. 2014; 33 (1): 181–98.
6. Munday R. Harmful and beneficial effects of organic monosulfides, disulfides, and polysulfides in animals and humans. Chem Res Toxicol. 2012; 25 (1): 47–60.
7. Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullos M. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. Ecotoxicol Environ Saf. 2006; 64 (2): 178–89.
8. Дюсенгалиев К. И. Физико-химические характеристики субститутов дисульфидного масла углеводородного сырья. Нефтяное дело. 2016; 5: 125–39.
9. Методические указания для определения ориентировочных безопасных уровней воздействия (ОБУВ) в атмосферном воздухе населенных мест. М., 1982; 17 с.
10. Вредные вещества: классификация и общие требования безопасности. ГОСТ 12.1.007–76. М., 1976; 6 с.
11. Классификация опасности химической продукции. Общие требования. ГОСТ 32419-2013. М.: Стандартинформ, 2014; 25 с.

References

1. Rahimov TH. Sovershenstvovanie processa pervichnoj pererabotki nefti i gazovogo kondensata s polucheniem serosoderzhashhih soedinenij i uglevodorodov [dissertacija]. Ufa, 2020. Russian.
2. Meshhakova NM, Benemanskij VV. Ocenka biologicheskogo dejstvija dimetildisul'fida s uchetom specificheskikh otdalennykh jeffektov. Bjulleten' VSNC SO RAMN. 2005; 2: 209–12. Russian.
3. Jurkevich ES, Prismotrov YuA. Nauchnoe obosnovanie orientirovochno bezopasnogo urovnja vozdejstvija dimetildisul'fida v vozduhe rabochej zony. Zdorov'e i okruzhajushhaja sreda. 2009; 13: 515–21. Russian.
4. Obzor rynka disul'fidnogo masla v Rossii. M.: Infomajn, 2012; 107 s. Russian.
5. Morgott D, Lewis C, Bootman J, Banton M. Disulfide oil hazard assessment using categorical analysis and a mode of action determination. Int J Toxicol. 2014; 33 (1): 181–98.
6. Munday R. Harmful and beneficial effects of organic monosulfides, disulfides, and polysulfides in animals and humans. Chem Res Toxicol. 2012; 25 (1): 47–60.
7. Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullos M. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. Ecotoxicol Environ Saf. 2006; 64 (2): 178–89.
8. Djusengaliev KI. Fiziko-himicheskie harakteristiki substitutov disul'fidnogo masla uglevodorodnogo syr'ja. Neftjanoe delo. 2016; 5: 125–39. Russian.
9. Metodicheskie ukazaniya dlja opredelenija orientirovochnyh bezopasnykh urovnej vozdejstvija (OBUV) v atmosfernom vozduhe naselennykh mest. M., 1982; 17 s. Russian.
10. Vrednye veshhestva: klassifikacija i obshhie trebovanija bezopasnosti. GOST 12.1.007.–76. M., 1976; 6 s. Russian.
11. Klassifikacija opasnosti himicheskoi produkcii. Obshhie trebovanija. GOST 32419-2013. M.: Standartinform, 2014; 25 s. Russian.