

УДК 612.014.462.9

## ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ КОРРЕКЦИИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО НЕБЛАГОПОЛУЧИЯ

© 2011 В.В. Аньшакова<sup>1</sup>, Б.М. Кершенгольц<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова, г. Якутск

<sup>2</sup> Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, г. Якутск

Поступила в редакцию 19.09.2011

Механохимический композит на основе активного наполнителя – лишайникового сырья и небольшого количества витаминно-микроэлементного комплекса обладает более высокой физиологической активностью, повышая резистентность организма лабораторных животных к действию физических нагрузок и экстремальных факторов различной природы.

Ключевые слова: *механохимия, лишайник, витаминно-микроэлементный комплекс, физическая выносливость*

Известно, что в фармации много внимания уделяется разработке способов повышения эффективности лекарственных препаратов за счет увеличения их скорости растворения и растворимости. Одним из путей решения этой задачи является получение твердых дисперсных систем – композитов «лекарственное вещество-носитель». Так называемое клатрирование позволяет существенно повысить биодоступность многих препаратов, снизить их токсичность и даже активировать новые свойства у исходного лекарственного вещества-фармакона. При этом иногда эффективную дозу фармакона удается уменьшить в десятки-сотни раз. Достичь эффекта клатрирования можно с помощью механохимических технологий. Механохимические изменения можно разделить на две группы [1]. Процессы первой группы связаны с разрывом и формированием внутримолекулярных ковалентных связей, вторая группа включает процессы с разрывом и образованием более слабых межмолекулярных связей. К первой группе механохимических реакций относятся распад молекул, окисление и гидролиз. В результате механической деградации молекул образуются свободные радикалы, вступающие в различные химические реакции. Механохимические процессы

процессы второго типа приводят к разупорядочению, аморфизации и полиморфным переходам кристаллических решеток веществ, конформационным превращениям в составляющих решетки молекулах. Все перечисленные процессы изменяют реакционную способность и биологическую активность лекарственных веществ и могут быть использованы для создания новых эффективных технологий, получения новых активных веществ, изменения свойств лекарственных веществ и лекарственных форм [1, 2].

Поскольку очень мелкие частицы обычно характеризуются высокой активностью, в фармакологии традиционно используются твердые дисперсии, которые состоят из частиц активного вещества, распределенных в нейтральной растворимой матрице. Матрицами или носителями могут служить вещества различной природы. Например, плохо растворимое нестероидное противовоспалительное лекарство ибупрофен может быть растворено благодаря реакции, как с органическими, так и с неорганическими носителями [3]. Механохимическая обработка сульфата азола с поливинилпирролидоном переводит кристаллическое вещество в аморфное состояние. Процесс сопровождается образованием водородных связей между молекулами сульфата азола и полимерной матрицей. Растворимость препарата меняется вместе с весовым содержанием полимера. Массовое соотношение полимера к лекарственному веществу, равное 1:3, дает наиболее высокую растворимость [4, 5].

*Аньшакова Вера Владимировна, кандидат педагогических наук, доцент кафедры общей, аналитической и физической химии. E-mail: anshakova\_v@mail.ru*

*Кершенгольц Борис Моисеевич, академик АН РС(Я), доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией экологической и медицинской биохимии. E-mail: kerschen@asrs.ysn.ru*

**Цель работы:** исследовать влияние совместной механохимической активации сухих слоевищ лишайников с витаминно-микроэлементным комплексом (ВМЭК) для улучшения биологической активности последних с целью расширения ассортимента биополимеров растительного происхождения как активного твердофазного наполнителя.

**Материалы и методы.** Широко известно об использовании лишайников в качестве иммуномодулирующего, противоопухолевого, гепатопротекторного, антибиотического средства. Несмотря на положительный опыт использования лишайников во многих разделах клинической медицины [6], в доступной литературе имеются немногочисленные сообщения о применении данного растения. Это связано с тем, что известные методы выделения физиологически активных веществ из слоевищ лишайников не дают желаемого результата.

Исследуемая физиологически активная растительная композиция с повышенной фармакологической активностью получена нами на основе: слоевищ лишайников (*Cladonia*) и ВМЭК «Олиговит» в массовом соотношении 20:1 из сухого сырья без участия растворителей в одну технологическую стадию с использованием механохимических технологий в шаровых мельницах, в частности планетарных или валковых, с центробежным ускорением мелющих тел в интервале 10-30 g. Лишайники из рода кладонии (*Cladonia*) – лекарственное растение, используемое в народной медицине для лечения многих заболеваний. В гифах лишайников обнаружены хитин и полисахарид лихенин, называемый еще лишайниковым крахмалом, количество которого доходит до 50% на сухое вещество. При его гидролизе образуется 98-99% D-глюкозы, остатки которой связаны в лихенине двояким образом – 73%  $\beta$ -гликозидными связями между 1-м и 4-м и 27%  $\beta$ -гликозидными связями между 1-м и 3-м углеродными атомами. Синтез лихенина в лабораторных условиях еще не осуществлен. Организм человека лихенин не усваивает, северными оленями он усваивается благодаря гидролизу бактериями, находящимися в пищеварительном канале. Для исследования образцов ягеля различного помола использовали метод сканирующей электронной микроскопии при 5000-кратном увеличении (сканирующий электронный микроскоп TM-1000 Hitachi High Technologies, Япония). Это позволяет изучать растительные объекты в естественном состоянии, получать четкие, не искаженные изображения без повреждений и

предварительных обработок химическими реагентами. Физиологическую активность биокомплекса ягель/ВМЭК различной активации, как грубого измельчения, так и механохимического, определяли *in vivo* при пероральном введении мышам CD-1.

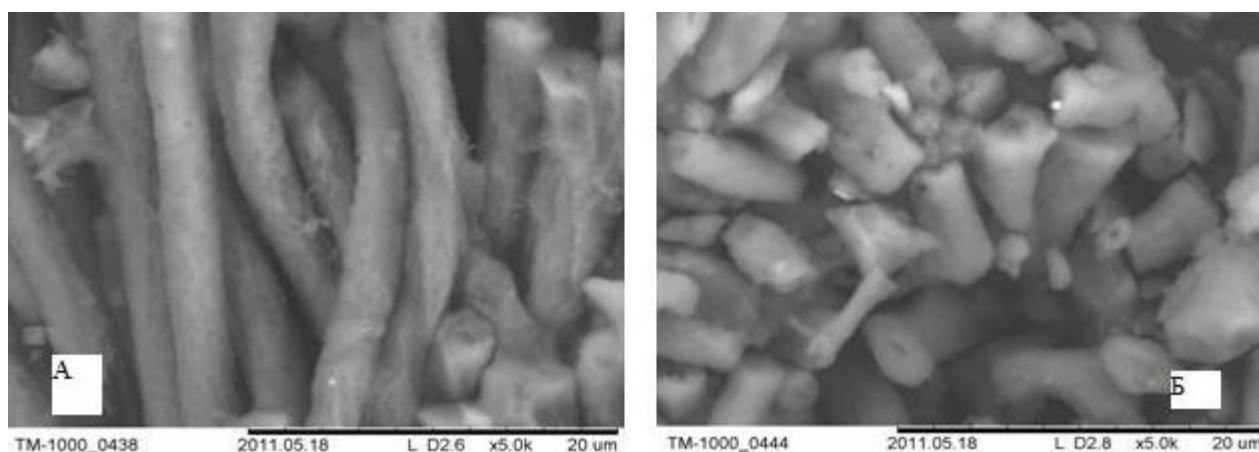
Оценка поведенческой активности животных проводилась с использованием тестов Плавание и AutoTrack согласно стандартным операционным процедурам на 30 и 45 день введения препарата. Животные контрольной группы № 1 получали растворитель (воду), остальные животные исследуемых групп получали биопрепарат из расчета 50 мг/кг зондовым введением в желудок. Для всех данных применена описательная статистика: подсчитаны среднее значение и стандартная ошибка среднего. Для определения достоверности межгрупповых различий данные проанализированы тестом Mann-Whitney (U-test) для непараметрических данных. Для данных с нормальным распределением межгрупповое сравнение проводили с использованием t-критерия Стьюдента (t-test) для множественного сравнения. Анализ выполнен для каждого пола отдельно. Статистический анализ проводили программой Statistica ver. 7.0. Различия определяли при 0,05% уровне достоверности. Поведенческие тесты отличаются высокой нестабильностью экспериментального объекта, поэтому корректно провели фоновое исследование поведенческой активности, которое мы сделали за один день до начала введения, на основании полученных результатов провели формирование групп для снижения погрешности.

Сорбционную активность по отношению к маркеру метиленовому синему, моделирующему средне- и низкомолекулярные токсины, измеряли методом прямой спектрофотометрии по модифицированной методике ГОСТ 4453-74 на спектрометре с программным обеспечением LAMBDA 20 при длине волны  $\lambda=400$  нм в кюветах толщиной поглощающего свет слоя 10 мм относительно дистиллированной воды. Модификация заключалась в дополнительном фильтровании на этапе центрифугирования, т.к. центрифугирование не дает полного разделения фаз. Статистическую обработку результатов адсорбции выполняли с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2010. Полученные данные обработаны статистически стандартными параметрическими методами с вычислением средней величины, стандартного отклонения, доверительного интервала по Стьюденту ( $n=9\div 20$ ) при уровне значимости  $p=0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Основная часть биологически активных веществ растений находится в клетках растений. Использование механохимической обработки разрушает стенки клеток (рис. 1) и способствует максимально эффективному выходу БАВ. На рисунке можно увидеть разрушенные клетки *Cladonia stellaris* после механоактивации.

Проведенные исследования физиологической активности механокомплекса ягель/ВМЭК показали высокий уровень физической

выносливости подопытных животных за счет увеличения биодоступности микроэлементов и ускоренной элиминации токсинов. Средние значения показателей массы тела представлены в таблице 1. Результаты свидетельствуют о том, что изменение массы в контрольной и экспериментальных группах не выявили достоверных отличий, таким образом, исследуемые препараты не обладают анаболическими свойствами, т.е. не способствуют наращиванию мышечной массы.



**Рис.1.** Сканирующие электронные фотографии структуры ягеля различного измельчения: грубого помола (А), механоактивированного (Б)

**Таблица 1.** Абсолютная масса тела животных, г

День	Контроль № 1 (n=15)	ВМЭК, контроль № 2 (n=15)	Смесь ВМЭК и ягеля в пропорции 1:20 грубо измельченная форма (n=15)	Смесь ВМЭК и ягеля в пропорции 1:20 механоактивированная форма (n=15)
0	25,0±2,4	25,3±2,2	23,0±1,6	23,6±2,1
30	33,9±2,4	31,8±4,1	29,4±4,3	27,5±2,3
45	34,9±2,1	32,4±4,7	32,4±3,2	32,0±4,9

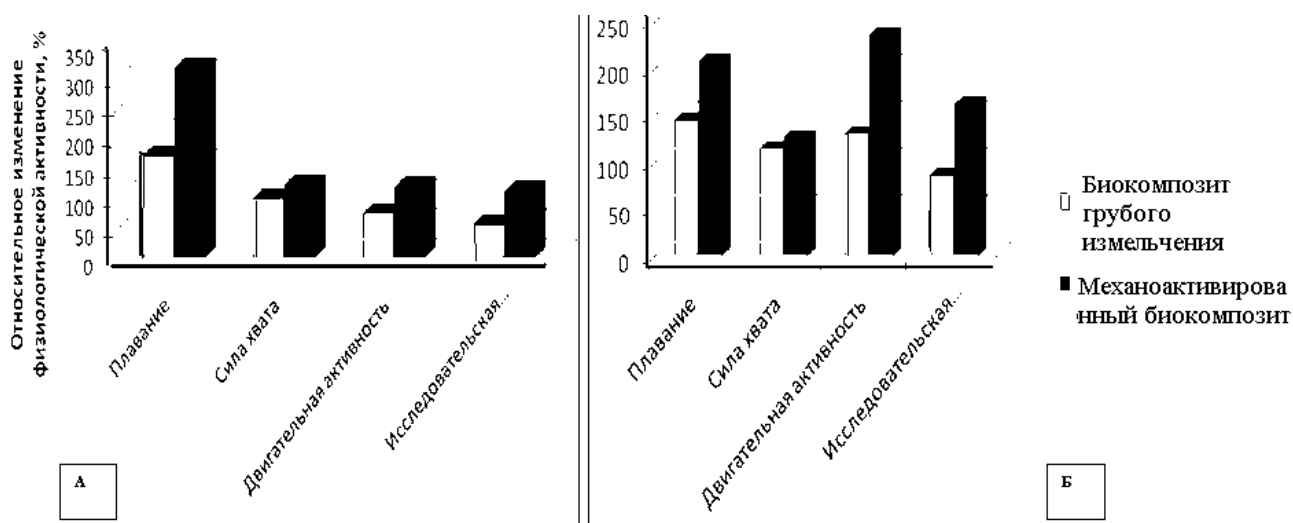
В тесте «Плавание» для оценки работоспособности и выносливости использовали плавательный тест «Отчаяния» по Porsolt и «Вынужденное плавание» с нагрузкой. При этом фиксировали время от начала эксперимента до предельного истощения (рис. 2). Анализ результатов экспериментальных животных выявил достоверное увеличение времени плавания на 30 день и на 45 день в группах получавших биокомпозит ягель/ВМЭК 20:1 механоактивированный (относительно группы, получавшей аналогичный по составу биокомпозит грубого измельчения).

Наблюдения в тесте «AutoTrack» были разделены на 2 группы: «Двигательная активность» – пройденное расстояние и «Исследовательская

активность» – количество стоек, совокупность которых характеризует целостное поведение, оценивающее действие на ЦНС. Важным показателем в исследовательской активности (эмоционально-стрессорная переносимость) является параметр «количество стоек» в тесте «AutoTrack». Количество стоек характеризует изменение эмоционально-стрессорного состояния экспериментального объекта. Увеличение параметра указывает на большую социальную заинтересованность объекта, адаптивность к окружающим объектам, увеличение поисковой активности. Снижение показателя – противоположный результат, скованность, низкая адаптация к условиям окружающей среды. Эти данные согласуются с классическими

представлениями, о том, что поисковая активность способствует успешному выходу из стрессовой ситуации. Анализ результатов показал, что и на 30 и на 45 день тестирования двигательная и исследовательская активности в

группе, получавшей механо-активированный биокомпозит, достоверно выше, чем в группе, получавшей аналогичную смесь грубого помола.



**Рис. 2.** Физиологическая активность животных: А – на 30-й, Б – на 45-й день введения композита ягель/ВМЭК

На наш взгляд объяснением физиологической активности механоактивированного образца может служить эффект комплексообразования фармаконов (активного действующего вещества) с различными наполнителями за счет диспергирования молекул лекарственных веществ в избыток твердой матрицы наполнителя [7, 8]. Обычно наполнитель, не обладающий базовой активностью, служит для того, чтобы связываясь в комплекс с фармаконом, обеспечить ему защиту от метаболических превращений (инактивации), более совершенный транспорт и повышенное сродство к рецепторам [9]. В нашем случае механохимические технологии наряду с межмолекулярным взаимодействием действующего вещества ВМЭК и матрицей наполнителя позволяют проводить преобразование и самого наполнителя, а именно деструкцию части лишайниковых  $\beta$ -полисахаридов до биодоступных  $\beta$ -олигосахаридов [10]. Спектр фармакологической активности наполнителя представлен более широко: олигосахариды лишайника не только клатрируют фармакон – ВМЭК, но и выполняют детоксикационную функцию, будучи активным сорбентом, одновременно элиминируют из организма токсины, что позволяет при снижении дозы ВМЭК в 10 раз увеличить физиологический эффект в 2,5-3 раза.

Сорбционная суточная емкость у механоактивированного образца составила

48,0 мг/г или 150,0 ммоль/кг. Следует отметить, что это очень высокие показатели по сравнению с известными адсорбентами, такими как полифепан и глина белая, адсорбционная емкость которых по метиленовому синему составляет 10,0 и 11,4 мг/г соответственно [11]. Скорость адсорбции также выше у механоактивированного препарата: в первые 20 мин адсорбция составила 92% его суточной адсорбционной емкости, в отличие от ягеля грубого помола, где за этот же промежуток времени адсорбционная емкость была в 2 раза ниже, чем у механоактивированного образца и составила лишь 69% суточной активности.

**Выводы:** твердофазная композиция, полученная механохимической активацией слоевищ лишайников (*Cladonia*) и ВМЭК в массовом соотношении 20:1, обладает повышенной в 2,5-3 раза физиологической активностью при снижении дозы ВМЭК в 10 раз за счет большей биодоступности ВМЭК и детоксикационной функции наполнителя. Созданный механохимический композит может быть использован в качестве лечебно-профилактического средства для повышения физической активности, выносливости, ускорения восстановления после физической нагрузки спортсменов и работоспособности людей, ведущих активный образ жизни, проживающих в экологически неблагоприятных регионах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Dubinskaya, A.M.* Mechanochemical transformations in organic substances // *Chemistry Reviews*. 1998. V. 23. P. 201-261.
2. *Shakhtshneider, T.P.* Mechanochemical synthesis and mechanical activation of drugs, in *Reactivity of molecular solids* / Ed. *E. Boldyreva and V. Boldyrev* // *T.P. Shakhtshneider, V.V. Boldyrev*. – John Wiley and Sons, 1999. P. 271-311.
3. *Ягодин, Ю.А.* и др. Авторское свид. СССР 1659434, Бюл. № 24 // *Открытия. Изобретения*. 1991. № 24. С. 92.
4. *Ягодин, Ю.А.* Механическая активация смеси клофелин – целлюлоза / *Ю.А. Ягодин, В.В. Болдырев* // *Известия Сибирского отд. АН СССР. Серия хим. наук*. 1989. Вып. 2. С. 37-43.
5. *Ягодин, Ю.А.* Растворение ацетилсалициловой кислоты в зависимости от комплексообразования ее с целлюлозой / *Ю.А. Ягодин, В.В. Болдырев* // *Химико-фармацевтический журнал*. 1989. Т. 23. № 7. С. 863-866.
6. БАД Ягель: Свид. о государственной регистрации 77.99.23.3. У.3522.5.08 МЗ РФ. ТУ 9219-002-36971185-08; санитарно-эпидемиологическое заключение № 77.99.03.003.Т. 0009 28.05.08 / *Б.М. Кершенгольц, П. А. Ремигайло* и др. – 2008.
7. *Душкин, А.В.* Механохимическое получение и фармакологическая активность водорастворимых комплексов арабиногалактана и лекарственных веществ / *А.В. Душкин, Е.С. Метелева, Т.Г. Толстикова* и др. // *Известия РАН. Сер. Химическая*. 2008. №6. С. 1274-1282.
8. *Душкин, А.В.* Комплексообразование фармаконов с глицирризиновой кислотой – путь создания лекарственных препаратов повышенной эффективности / *А.В. Душкин, Е.С. Метелева, Т.Г. Толстикова* и др. // *Химия в интересах устойчивого развития*. 2010. Т. 18, №4. С. 517-525.
9. *Толстикова, Т.Г.* На пути к низкодозовым лекарствам / *Т.Г. Толстикова, А.Г. Толстиков, Г.А. Толстиков* // *Вестник РАН*. 2007. Т. 77, №10. С. 867-874.
10. *Аньшакова, В.В.* Механохимические технологии получения биологически активных веществ из лишайников / *В.В. Аньшакова, Б.М. Кершенгольц, Е.С. Хлебный, А.А. Шейн* // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2011. Т. 13, №1. С. 236-240.
11. *Маркелов, Д.А.* Сравнительное изучение адсорбционной активности медицинских сорбентов / *Д.А. Маркелов, О.В. Ницак, И.И. Геращенко* // *Химико-фармацевтический журнал*. 2008. Т. 42, №7. С. 30-33.

**WAYS OF INCREASING THE EFFICIENCY OF  
TREATMENT-AND-PROPHYLACTIC MEANS  
OF ECOLOGICAL TROUBLE CORRECTION**

© 2011 V.V. Anshakova<sup>1</sup>, B.M. Kershengolts<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Northeast Federal University named after M.K. Ammosov, Yakutsk

<sup>2</sup>Institute of Biological Problems of Cryolitozone SB RAS, Yakutsk

Mechanic-chemical composite on the basis of active filler – lichen raw materials and small amount of vitamin-microelement complex possesses higher physiological activity, raising resistance of an organism at laboratory animals to action of physical activities and extreme factors of the various nature.

Key words: *mechanical chemistry, lichen, vitamin-microelement complex, physical endurance*

*Vera Anshakova, Candidate of Pedagogy, Associate Professor at the Common, Analytic and Physical Chemistry. E-mail: anshakova\_v@mail.ru*

*Boris Kershengolts, Academician of RS(Ya)AS, Doctor of Biology, Professor; Chief of the Ecological and Medical Biochemistry Laboratory. E-mail: kerschen@asrs.ysn.ru*