

## ВЛИЯНИЕ ИОНОВ СЕРЕБРА НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ ЧЕРЕЗ БИОМЕМБРАНЫ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ ПЕЛОИДОВ

© 2014 Н.П. Аввакумова<sup>1</sup>, М.А. Кривопалова<sup>1</sup>, М.Н. Глубокова<sup>1</sup>, А.В. Жданова<sup>1</sup>,  
Ю.В. Жернов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Самарский государственный медицинский университет

<sup>2</sup> Институт иммунологии ФМБА России

Поступила в редакцию 05.10.2014

В работе показана возможность проникновения гуминовых веществ и их производных через биологические мембраны. Показано, что проницаемость зависит от кислотности среды и присутствия трансагентов. Биодоступность исследуемых пелоидопрепаратов возрастает в слабощелочной и уменьшается в кислой среде, что связано с изменениями пространственной конфигурации макромолекул.

Ключевые слова: *гуминовые кислоты, проницаемость, ионы серебра, диметилсульфоксид, биодоступность*

Ведущим лечебным фактором низкоминерализованных пелоидов являются соединения гуминовой природы. Гуминовые вещества представляют собой совокупность биотермодинамически устойчивых соединений, образующихся в процессе разложения и биотрансформации растительных и животных остатков, не имеющих аналогов в живых организмах и характеризующихся темной окраской, полидисперсностью, высокими молекулярными массами [3, 4,]. Механическое смешивание уже полученных фракций после выделения не обладает тем набором свойств, которые характерны для гумусовых кислот. В составе гуминовых веществ принято выделять следующие группы: фульвовые (ФК), гиматомелановые (ГМК), гуминовые (ГК) и их суммарный препарат – гумусовые кислоты (ГсК). Гуминовые кислоты растворимы в щелочном диапазоне рН, состоят из ароматического ядра и периферической части, образованной алифатическими цепями. Гиматомелановые кислоты являются спирторастворимой фракцией,

*Аввакумова Надежда Петровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой общей, бионеорганической и биоорганической химии. E-mail: navvak@mail.ru*

*Кривопалова Мария Ариевна, кандидат химических наук, доцент кафедры общей, бионеорганической и биоорганической химии. E-mail: samchetyu@yandex.ru*

*Глубокова Мария Николаевна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры общей, бионеорганической и биоорганической химии. E-mail: glubokova\_mn@mail.ru*

*Жданова Алина Валитовна, кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры общей, бионеорганической и биоорганической химии*

*Жернов Юрий Владимирович кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии и вирусов*

отличительной особенностью которой является высокое атомное отношение Н/С и высокий отрицательный редокс-потенциал. Фульвовые кислоты растворимы во всем диапазоне рН среды и характеризуются высокой степенью окисленности. Они отличаются от других компонентов гуминовых веществ меньшим содержанием углерода и большей гидрофильностью [1, 5].

Важным фармакокинетическим свойством любого потенциального лекарственного средства является его биологическая доступность. Транспорт специфических органических компонентов пелоидов через биомембраны сталкивается с существенными трудностями, связанными с их высокой молекулярной массой. Кислотные фракции являются наиболее подвижными и реакционноспособными компонентами гуминовых веществ, активно участвующими в химических процессах, протекающих в экосистемах [1, 2, 7], поэтому они наиболее интересны для применения в медицинской и фармацевтической практике.

**Цель исследования:** изучение проницаемости отдельных групп гуминовых веществ низкоминерализованных пелоидов через мембраны животного происхождения.

**Объекты исследования:** образцы гуминовых, гиматомелановых, фульвовых и гумусовых кислот, выделенные из низкоминерализованных иловых сульфидных грязей Санатория Сергиевские минеральные воды Самарской области.

С целью определения биодоступности исследуемых соединений при различных значениях рН = 4,0; 6,0; 7,4; 8,0 готовили растворы с содержанием действующих веществ 0,2% (масс). В качестве биологической мембраны использовали фрагменты кишечной стенки быка (тонкий кишечник). Через 24 часа внутренний раствор подвергли фотометрированию с помощью

фотометра «КФК-3», используя кювету с  $d=10,05$ . Для получения количественных характеристик диализа были предварительно построены калибровочные графики зависимости оптической плотности растворов ( $D$ ) от их концентраций в линейном диапазоне  $10^{-3} - 7 \cdot 10^{-3}$  (масс.) (рис. 30); коэффициент корреляции составил 0,993. На основании полученных данных рассчитана степень диализа ( $\varepsilon$ ) фульвовых, гиматомелановых, гуминовых кислот и гумусовых по формуле:

$$\varepsilon = \frac{W(\text{исх.}) - W(\text{диал.})}{W(\text{исх.})}$$

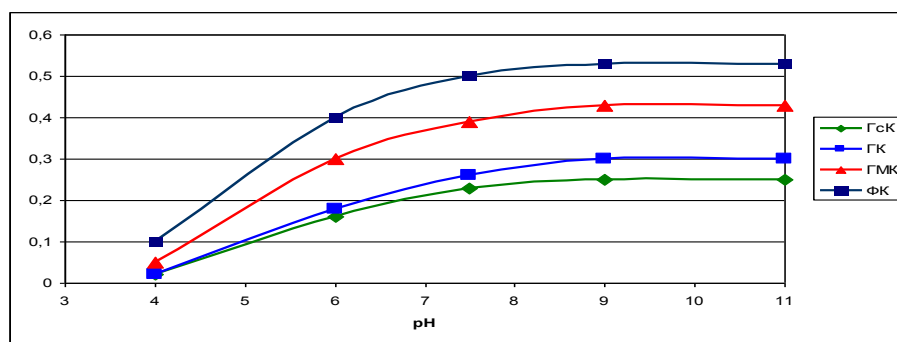


Рис. 1. Зависимость проницаемости гуминовых веществ от pH раствора

Увеличение проницаемости через биомембраны находится в обратной зависимости от средних значений молярных масс компонентов. Фракция гуминовых кислот, характеризующаяся наибольшим значением молярной массы структурной единицы (16000 а.е.м.), диализирует в 1,5-2,5 раза хуже более легких фракций, к которым относятся фульвовые (755 а.е.м.) и гиматомелановые кислоты (1455 а.е.м.) соответственно. С повышением значений pH до 9,0 наблюдается симбатное возрастание диализа соединений на 7-9% относительно значений коэффициента проницаемости при pH 7,4. При уменьшении pH растворов до значения 4 наблюдается резкое уменьшение в 5-7 раз степени диализа субстанций. Выше изложенные особенности диализа определяются, по-видимому, непостоянством формы конформаций гуминовых веществ при различных значениях pH среды. Дальнейшее повышение pH среды к увеличению проницаемости не приводит.

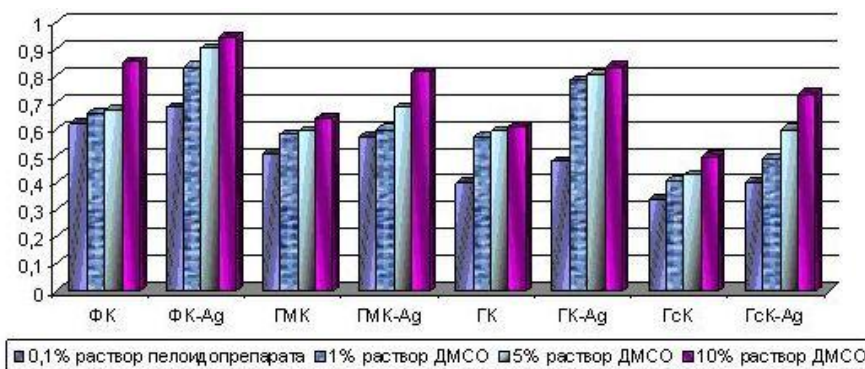
Согласно результатам элементного анализа фульвовые кислоты характеризуются максимальным содержанием кислорода по сравнению с другими фракциями, поэтому очевидно, что молекулы фульвовых кислот имеют в своей структуре большое количество гидрофильных фрагментов. Это наряду с меньшей молекулярной массой обуславливает их активный транспорт через биологическую мембрану. С увеличением значений pH макромолекулы гуминовых

где  $W(\text{диал.})$  – массовая доля гуминовых веществ в растворе после диализа;  $W(\text{исх.})$  – массовая доля растворов гуминовых веществ, помещенных в диализатор.

Как видно из полученных данных (рис. 1), способность отдельных фракций гуминовых веществ к диализу зависит от кислотности растворов. При pH=7,4 наибольшая степень диализа характерна для фульвокислот (0,50), а наименьшая для гумусовых кислот (0,23). Гиматомелановые кислоты характеризуются промежуточным значением  $\varepsilon$  равным 0,35, а гуминовые – 0,26.

веществ стремятся принять вытянутую конфигурацию, что связано с ростом степени ионизации кислотных групп за счет усиления процессов солеобразования в щелочной среде с катионами натрия. При этом происходит усиление взаимного электростатического отталкивания одноименно заряженных фрагментов молекулярной структуры, что способствует вытягиванию макромолекулы и приближению ее формы к линейной. При уменьшении значений pH до 4,0 резкое снижение числа молекул способных к диализу свидетельствует, по-видимому, о том, что макромолекулы принимают форму, близкую к сферической. Скручивание макромолекулы обусловлено, вероятно, возникновением многочисленных водородных связей. В результате этого на поверхности стохастического клубка преобладают алифатические и ароматические фрагменты структуры, что затрудняет диализ таких конгломератов через мембраны.

Высказанные предположения подтверждаются исследованием способности к диализу фракций, модифицированных ионами серебра (рис. 2). Ион серебра, являясь мягкой кислотой Льюиса, воздействует на макромолекулы в том же направлении, что и ион натрия, способствуя формированию вытянутой пространственной формы макромолекул, увеличивая способность гуминовых веществ к диализу через животную мембрану на 28%.



**Рис. 2.** Зависимость степени диализа растворов гуминовых веществ и гумата серебра от концентрации диметилсульфоксида

Использование в качестве трансагента диметилсульфоксида (ДМСО) в концентрациях 1%, 5% и 10% повышает способность гуминовых веществ проникать через биологические мембраны, а, следовательно, через кожные барьеры и слизистые оболочки, без повреждения последних (рис. 2). Однопроцентный раствор ДМСО незначительно влияет на проницаемость фульвовых кислот (увеличивается на 6%) и гуматомелановых кислот пелоидов (на 14%). В гуминовых и гумусовых кислотах проницаемость при введении 1% раствора ДМСО возрастает на 41% и 21% соответственно, 5% раствор ДМСО не изменяет проницаемость. Для всех фракций гуминовых веществ оптимальной является 10% концентрация ДМСО, именно при этой величине наблюдается максимальный выход пелоидопрепаратов (рис. 2). Диализационная способность солей серебра гуминовых веществ в 10% растворе ДМСО становится максимальной и дальнейшее увеличение концентрации ДМСО нецелесообразно, так как может спровоцировать повреждение биомембран.

**Выводы:** полученные результаты свидетельствуют о принципиальной возможности проникновения гуминовых веществ и их

производных через биологические мембраны. Проницаемость зависит от кислотности среды и присутствия трансагентов. Биодоступность исследуемых пелоидопрепаратов возрастает в слабощелочной и уменьшается в кислой среде, что связано с изменениями пространственной конфигурации макромолекул. Проницаемость гуминовых компонентов низкоминерализованных лечебных грязей значительно увеличивается в присутствии трансагентов, что необходимо использовать в практической пелоидотерапии.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Аввакумова, Н.П.* Биохимические аспекты терапевтической эффективности гумусовых кислот лечебных грязей. – Самара: ГП Перспектива; СамГМУ, 2002. 124 с.
2. *Аввакумова, Н.П.* Природа защитного действия гуминовых веществ различного генеза / *Н.П. Аввакумова, М.А. Кривопалова, А.В. Жданова* и др. // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2012. Т. 14, № 1-8. С. 2104-2107.
3. *Аввакумова, Н.П.* Технологические аспекты гуминовых пелоидопрепаратов / *Н.П. Аввакумова, М.Н. Глубокова, М.А. Кривопалова* // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2014. Т. 15, №3 (3). С. 1160-1162.

## INFLUENCE OF SILVER IONS ON PERMEABILITY THROUGH BIOMEMBRANES OF HUMIC SUBSTANCES IN PELOIDS

© 2014 N.P. Avvakumova<sup>1</sup>, M. A. Krivopalova<sup>1</sup>, M.N. Glubokova<sup>1</sup>, A.V. Zhdanova<sup>1</sup>, Yu.V. Zhernov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Samara State Medical University  
<sup>2</sup> Institute of Immunology FMBA of Russia

In work possibility of penetration the humic substances and their derivatives through biological membranes is shown. It is shown that permeability depends on acidity of the environment and presence of transagents. Bioavailability of the studied peloids preparations increases in slightly alkaline and decreases in acidic environment that is connected with changes of spatial configuration of macromolecules.

Key words: *humic acids, permeability, silver ions, dimethyl sulfoxide, bioavailability*

*Nadezhda Avvakumova, Doctor of Biology, Professor, Head of the Common, Biononorganic and Bioorganic Chemistry Department. E-mail: navvak@mail.ru; Maria Krivopalova, Candidate of Chemistry, Associate Professor at the Common, Biononorganic and Bioorganic Chemistry Department. E-mail: samchemy@yandex.ru; Maria Glubokova, Candidate of Pharmacy, Associate Professor at the Common, Biononorganic and Bioorganic Chemistry Department. E-mail: glubokova\_mn@mail.ru; Alina Zhdanova, Candidate of Pharmacy, Senior Lecturer at the Common, Biononorganic and Bioorganic Chemistry Department; Yuriy Zhernov, Candidate of Medicine, Senior Research Fellow at the Laboratory of Physiology and Viruses*