
О БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И СУПРАМОЛЕКУЛЯРНОЙ СТРУКТУРЕ МОРСКИХ ВОД: ПРОБЛЕМЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРИРОДНЫХ ВОД В СОСТАВЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Е.В. Успенская, А.В. Балышев

Кафедра фармацевтической и токсикологической химии
Медицинский факультет

Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198

А.В. Сыроешкин

Кафедра биологии и общей генетики
Медицинский факультет

Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198

Рассмотрены современные подходы к определению свойств и качества природных вод, предназначенных для изготовления фармацевтических препаратов. Показано, что воды внутренних морей оказывают токсическое воздействие на клеточный биосенсор, что связано со значительной антропогенной нагрузкой на них. Анализ супрамолекулярной структуры воды может служить экспресс-оценкой качества пригодности воды для применения в медицинских целях.

В начале XXI века перед человечеством остро встала проблема качества воды, превращающейся в стратегическое сырье [1]. Вода, предназначенная для питьевых целей и изготовления лекарственных препаратов, не должна вызывать токсические эффекты, нарушать жизнедеятельность организма на клеточном и молекулярном уровнях.

Проблема загрязнения морской воды актуальна для всех внутренних морей с развитой инфраструктурой прибрежных городов и слабым водообменом с Мировым океаном. Ежегодно в аптечную сеть поступают новые лекарственные средства — оригинальные, дженерики, инновационные препараты, что должно сопровождаться жестким контролем качества лекарственных средств. До недавнего времени лекарственные средства на основе морской воды не были представлены на отечественном фармацевтическом рынке. Сегодня такие торговые бренды как «Аква Марис», «Физиомер», «Салин», являющиеся препаратами природного происхождения или близкие по составу к природной морской воде, широко позиционируются как эффективные, безвредные средства профилактики ОРВИ, профилактики и лечения ринитов (в том числе аллергических), а также для гигиены слизистой носа (поддержание физиологической влажности). По данным морской экологической токсикологии, загрязняющие вещества, попадающие в морскую воду антропогенными и естественными способами, концентрируются на границах вода—дно, вода—атмосфера и образуют мультикомпонентную смесь загрязняющих веществ [2]. Комбинация тяжелых металлов в таких водных слоях при попадании в организм будет проявлять токсическое действие, если содержание химических элементов превышает норму.

Целью настоящей работы стало комплексное исследование биологической активности/токсичности природных вод, определение их супрамолекулярной структуры для оценки безопасности применения в фармации препаратов на основе морской воды.

Материалы и методы. Объектами исследования были воды разных морей, отличающиеся содержанием солей. Соленость воды Черного моря составляет 18 г/л, Балтийского моря 5 г/л, Северного Ледовитого океана и Баренцева моря — 35 г/л. Пробы воды собирались и транспортировались в индивидуальной одноразовой пластиковой посуде в замороженном виде. Непосредственно перед анализом образцы подвергались естественному таянию и нагреву до комнатной температуры. Для лазерных исследований водные образцы пропускались через фильтр «Millex» с диаметром отверстий 0,22 мкм для удаления частиц дисперсного вещества.

Биотестирование вод позволяет получить интегральную оценку качества воды. Использование биотестов крайне важно для объективного и комплексного контроля за возрастающим количеством ксенобиотиков, загрязняющих воду, большинство из которых не нормируются существующими стандартами, однако способны вызывать разнообразные токсические эффекты — цитотоксические, генотоксические или мутагенные. Определение биотоксичности проводили с помощью клеточного биосенсора — свободноживущей инфузории *S. ambigua* на основе диаграмм «доза—ответ» и «время жизни — температура». Вид температурных зависимостей по сохранению или нарушению линейности в аррениусовских координатах может также указывать на неаддитивные эффекты (синергизма или антагонизма) при комбинированном действии многокомпонентных смесей загрязняющих веществ. Взаимодействие *S. ambigua* с токсикантом представляется двухстадийной кинетической схемой, включающей быстрое образование обратимого промежуточного состояния, равнозначного комплексу фермента клетки с токсикантом с последующим медленным (минуты, часы) переходом в неподвижное состояние (гибель клетки) по закону аррениусовской кинетики [3]. Полученные результаты позволили рассчитать энергию активации стадии клеточного перехода в неактивное состояние. Показано, что данный параметр является инвариантной характеристикой и находится во взаимно-однозначном соответствии с химическим составом исследуемого водного образца.

Численное и объемное распределение гигантских гетерофазных кластеров воды (ГГК) (размерные спектры) определяли с помощью лазерных малоугловых измерителей дисперсности: модель «MasterSizer» 3600 Ес производства фирмы «Malvern» и модель «Кластер-1» (ИДЛ-1, измеритель дисперсности лазерный) производства ГОИН-ИКХХВ.

Исследование биологической активности водных образцов. Для оценки биотоксичности испытывали 6 типов соленой воды. Образцом сравнения выступали растворы натрия хлорида, концентрация которых соответствовала содержанию соли в исследуемых морских водах.

На первом этапе работы получили зависимость «время жизни — температура» при 28 °С для солевых проб различного происхождения (рис. 1).

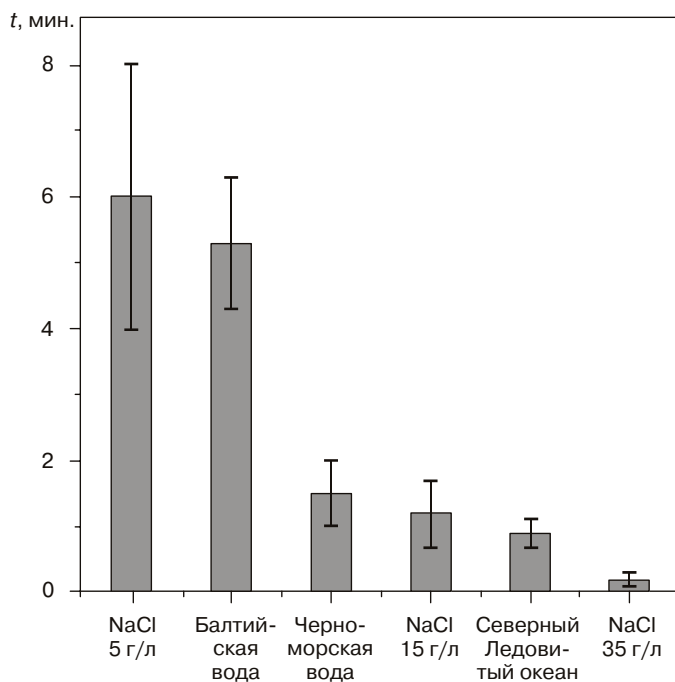


Рис. 1. Время жизни *S. ambigua* в различных типах солевых растворов

Несмотря на одинаковую концентрацию NaCl в искусственных и природных водах, продолжительность жизни *S. ambigua* в соленых водах была различной. Это объясняется тем, что кроме ионов Na^+ на жизнедеятельность клетки влияет, в частности, комбинация макро- и микроэлементов природных вод. Так, время жизни клеточного биосенсора в пробах воды Балтийского моря меньше, чем в солевом растворе аналогичной концентрации. С другой стороны, время жизни в воде Северного Ледовитого океана больше, чем в солевом растворе с той же концентрацией. Эти результаты коррелируют с данными о содержании токсических веществ внутренних и внешних морей [4].

Таким образом, наименьшее токсическое влияние на клеточный биосенсор оказывает вода из Северного Ледовитого океана. Это делает ее перспективной в плане изготовления лекарственных препаратов на основе природной воды.

Параметр истинной энергии активации лигандиндуцируемой гибели *S. ambigua* рассчитывали из аррениусовской линейаризации кинетики медленной стадии клеточного перехода в неактивное состояние (рис. 2).

Оказалось, что значение истинной энергии активации клеточных переходов при инкубации в растворе натрия хлорида концентрацией 5 г/л имеет максимальное значение (табл.). Именно в этом растворе происходит смещение равновесия клеточного перехода, приводящее к гибели *S. ambigua* [3]. Низкое, по сравнению с другими типами вод, значение энергии активации процесса гибели инфузории в воде Северного Ледовитого океана означает, вероятно, существование только одного типа промежуточного состояния клетки.

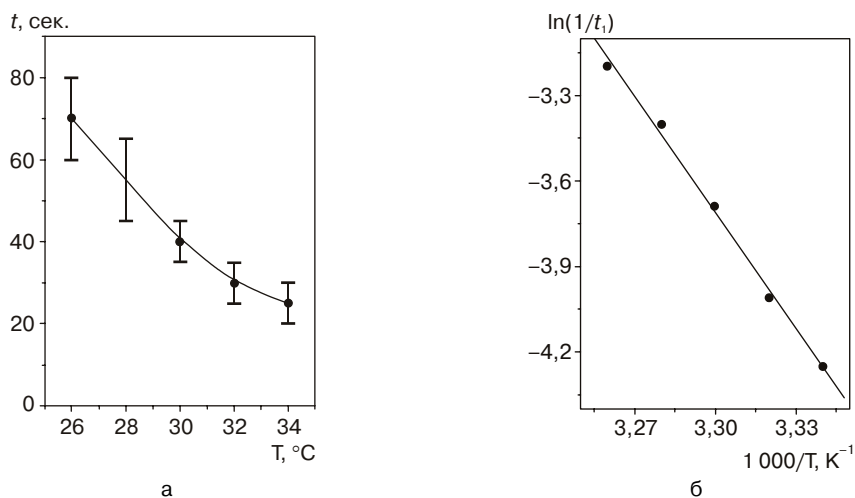


Рис. 2. Зависимость времени жизни клеточного биосенсора от температуры в пробах воды Северного Ледовитого океана:
а — экспоненциальная, б — линеаризованная зависимости

Таблица

Значения энергии активации кинетики клеточных переходов *S. ambigua*

| Образец | E_a , кДж/моль |
|----------------------------------|------------------|
| Раствор NaCl, 5 г/л | 242 |
| Вода Балтийского моря | 162 |
| Раствор NaCl, 35 г/л | 174 |
| Вода Северного Ледовитого океана | 112 |

Исследование супрамолекулярной структуры воды. Индивидуальный соле-вой, изотопный и газовый состав водных растворов определяет уникальную комбинацию их размерных спектров гигантских гетерофазных кластеров (ГГК) воды [5]. Анализ размерных спектров показывает, что возможна не только идентификация водных образцов по причине существования соответствия «вид размерного спектра — природа водного образца», но и его качественная характеристика.

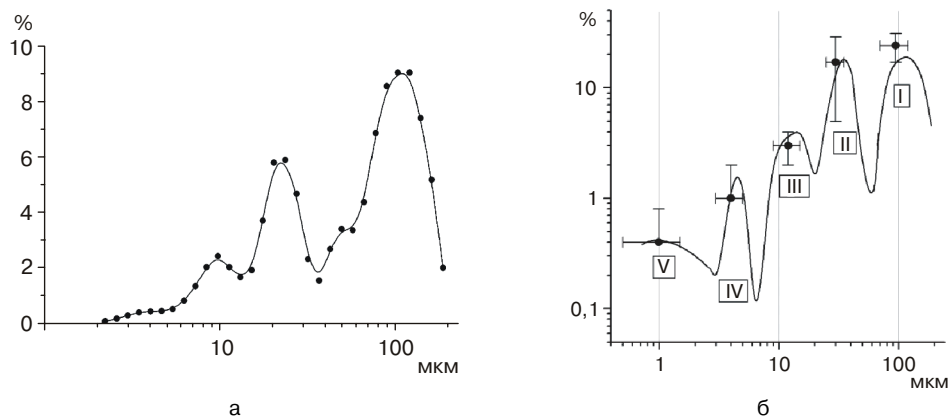


Рис. 3. Размерный спектр гигантских гетерофазных кластеров воды:
а — в пробе из Баренцева моря,
б — в пробе деионизованной высокоомной воды

Таким образом, сравниваемый размерный спектр ГГК воды представлен тремя размерными группами — кластерами I, II, и III типов.

Проведенные исследования супрамолекулярной структуры и биологической активности в опытах с универсальным клеточным биосенсором природных вод показали необходимость осторожных подходов при выборе морских вод для изготовления лекарственных препаратов. С этой целью целесообразно проводить отбор воды внешних морей или океанов. Целесообразна оценка структуры воды на супрамолекулярном уровне в зонах отбора проб с использованием мобильных приборов на основе лазерной дифракции света, что позволяет осуществлять экспресс-оценку пригодности воды к медицинскому назначению.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Гончарук В.В.* Вода: проблемы устойчивого развития цивилизации в XXI веке. — Киев: ИКХХВ НАН Украины, 2003. — С. 48.
- [2] *Сыроешкин А.В., Попов П.И.* Морские аэрозоли. Токсичность, методы исследования. Сборник статей. — РУДН. ООО Метбизнесгрупп. — М., 2005. — С. 110.
- [3] *Суздалева О.С., Кискина Л.П. и др.* Кинетическое описание взаимодействия клетки с низкомолекулярными лигандами // Вестник РУДН. Серия «Медицина». — 2001. — № 3. — С. 25—32.
- [4] *Сыроешкин А.В., Бальшев А.В. и др.* Экспедиция Государственного океанографического института в Западной Арктике // Метеоспектр. — 2006. — № 1. — С. 117—122.
- [5] *Смирнов А.Н., Латшин В.Б. и др.* Вода как гетерогенная структура // Электронный журнал «Исследовано в России». <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2006/088.pdf>. — 2006. — С. 843—854.

ABOUT BIOLOGICAL ACTIVITY AND THE WATER STRUCTURE OF SUPRA MOLECULAR LEVEL OF SEA AND FRESH WATERS: THE PROBLEMS OF STRUCTURE OF NATURAL WATERS FOR PHARMACEUTICAL PREPARATIONS

E.V. Uspenskaya, A.V. Balyshv

Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry

Medical faculty

Peoples' Friendship University of Russia

M.-Maklaya str., 8, Moscow, Russia, 117198

A.V. Syroeshkin

Department of Biology and Genetics

Medical faculty

Peoples' Friendship University of Russia

M.-Maklaya str., 8, Moscow, Russia, 117198

Modern approaches to definition of properties and qualities of the natural water intended for manufacturing of pharmaceutical preparations are considered. It is shown, that waters of the internal seas render toxic influence on a cellular biosensor control that is connected with significant anthropogenous loading on them. The analysis of water supramolecular structure can serve the express train-estimation of quality of suitability of water for application in the medical purposes.