



УДК 577.913:543.2

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СУБМИКРОСТРУКТУРИРОВАННОЙ СУБСТАНЦИИ ТАУРИНА

В.И. КОЧКАРОВ
О.О. НОВИКОВ
Е.Т. ЖИЛЯКОВА
М.Ю. НОВИКОВА
О.С. ВОРОНКОВА

*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

e-mail: novikov@bsu.edu.ru

Установлено, что модельные глазные капли на основе субмикроструктурированного таурина обладают выраженным защитным эффектом при визуальной оценке прозрачности хрусталика, не уступающим препарату сравнения – глазным каплям «Тауфон».

Ключевые слова: таурин, субмикроструктурирование, катаракта.

Введение. Поскольку современная медицина использует большой арсенал лекарств, но многие из них еще далеки от «идеальных средств» лечения тех или иных болезней, поиск новых веществ с фармакологической активностью чрезвычайно важен. Однако их последующее использование для лечения людей и дороговизна внедрения приводит к необходимости отсеивания небезопасных и неэффективных препаратов еще до стадии их исследования на больных людях. В этом и заключается доклиническое изучение веществ, перспективных с фармакологической точки зрения [1]. Сам подход к приобретению нового спектра лекарственных агентов за счет существующего набора биологически активных соединений представляется чрезвычайно перспективным. И это достижимо с помощью методов нанотехнологии и механохимии. Однако до настоящего времени не существует действенной системы оценки безопасности для макроорганизма применяемых в официальной медицине ксенобиотиков с измененными физико-химическими свойствами.

Возможность применения наночастиц (НЧ) для повышения эффективности воздействия фармакологических средств диагностики и терапии основана на том факте, что вещества в наноформе имеют свойства, отличные от свойств веществ в макродисперсной форме. В частности, высокая удельная поверхность наноматериалов приводит к тому, что поверхностные явления (адсорбция-десорбция, адгезия) начинают играть преобладающую роль в процессах их взаимодействия с макровеществами, с макромолекулами и биологическими объектами [1].

Лекарственные вещества (ЛВ) в виде наночастиц имеют не до конца изученные свойства, влияющие на их фармакокинетику, т. е. на всасывание, распределение в тканях, биотрансформацию и выведение из организма.

Систематическое изучение закономерностей действия ЛВ в новом агрегатном состоянии позволит определить как их терапевтический потенциал, так и возможные риски для здоровья человека.

Чтобы разработать адекватные подходы к прогнозу риска влияния НЧ различной природы на здоровье человека, необходимо обязательно изучать фундаментальные закономерности проявления биологических эффектов этих частиц. Исследование наиболее общих закономерностей проявления биологических и токсических эффектов НЧ в зависимости от их формы, размера, исходного материала, площади поверхности, заряда и других физико-химических особенностей строения считается одним из актуальнейших вопросов нанотоксикологии. Не менее важны исследования, определяющие дозы, пути введения и концентрации наночастиц в области органа-мишени, продолжительность их воздействия [2].

Кроме того, особо значимый аспект изучения токсикологии НЧ – оценка возможных отдаленных эффектов, которые не манифестируют в краткосрочной перспективе. Это прежде всего влияние на геном, иммунитет, внутриутробное и постнатальное



развитие потомства. Сведения по таким вопросам в сегодняшних научных публикациях практически отсутствуют.

Недостаток оригинальных отечественных лекарственных средств (ЛС), соответствующих современному мировому уровню, является реальной экономической и национальной проблемой России. На российскую фармацевтическую отрасль оказывают влияние негативные факторы, среди которых технологическое отставание от зарубежных производителей с соответствующими различиями в части номенклатуры производимой продукции. Сегмент, по которому отставание приобретает широкий масштаб, представлен наиболее современными лекарствами, производство которых является чрезвычайно емким в отношении использования технологий. На сегодняшний день российская фармацевтическая промышленность производит достаточно ограниченный спектр лекарств, многие из которых можно считать устаревшим. Государство на протяжении последних лет демонстрирует высокую степень интереса к перспективным рынкам. Без сомнения, рынок фармацевтики также относится к их числу. Примером государственной заинтересованности является национальная программа Стратегия Фарма 2020.

Зависимость от импортных субстанций негативно влияет на лекарственную безопасность страны [3].

Развитие современных технологий, использующих процессы диспергирования, сделало весьма актуальной проблему оптимизации технологических свойств материалов, подвергнутых интенсивным механическим воздействиям. Работы в этом направлении стимулируются необходимостью получения активированных веществ с заданными свойствами, в значительной мере оптимизированными в сравнении с таковыми в исходном состоянии.

Предварительные исследования, в том числе с использованием механохимических приемов, показали, что существующая степень решения проблемы комплексного изучения физико-химических свойств, безопасности фармакологической активности субмикро- и наноструктурированных фармацевтических субстанций требует дальнейшей разработки новых методических подходов и алгоритмов для повышения качества получаемых результатов.

Материалы и методы. Эксперименты по изучению фармакологической активности проводили на молодняке беспородных белых крыс, через 12-14 суток после рождения. Животных содержали в виварии – по 1 взрослой крысе с пометом в индивидуальной клетке площадью 1600 кв. см, при температуре воздуха $22 \pm 2^\circ\text{C}$ и световом режиме 12-12, кормили сухим (крупа, зерно, хлеб) и сочным (капуста, морковь, свекла) кормом [4].

Эффективность исследуемых препаратов оценивали на модели селениновой катаракты у крыс.

Чтобы начать исследование, молодняку крыс вводили подкожно на 13-й день после рождения селенит натрия, Na_2SeO_3 (Merck, Германия), растворенный в 0,9% NaCl , в дозе 30 нмоль/г массы тела. После селенистоксилой инъекции наблюдалось быстрое прогрессирование катаракты, которая достигала зрелости к 4-5-м суткам после инъекции.

Наблюдения производились на 7-й день после инъекции селенита натрия, при этом изучалось состояние хрусталиков методом биомикроскопии с использованием фотошелевой лампы с углом 35° и микроскопа СЛ-2 с адаптером для цифрового фотоаппарата. Для этого крыс наркотизировали этаминалом натрия в дозе 30 мг/кг, с целью расширения зрачка использовалась смесь 1% раствора атропина и 10% фенилэфрина гидрохлорида в соотношении 1:1.

Животные были разделены на четыре группы: I группа – контрольная, не получавшая лечения; II группа – леченная модельными глазными каплями – 4% раствором субмикроструктурированной субстанции таурина – глазными каплями № 1; III группа – леченная модельными глазными каплями – 2% раствором субмикроструктурированной субстанции таурина – глазными каплями № 2; IV группа – леченная глазными каплями «Тауфон» (4% раствор базовой субстанции таурина).



Каждая экспериментальная группа животных состояла из десяти особей.

Исследуемые препараты вводились субконъюнктивально 3 раза в день по 1 капле в каждый глаз начиная со дня инъекции селенита натрия.

Визуальная оценка степени поражения хрусталика глаза производилась при помощи фотощелевой лампы, при этом была принята следующая градация повреждений (рис. 1):

0 степень – прозрачный хрусталик, задний шов хрусталика узкий с четкими границами;

1 степень – многочисленные субкапсулярные вакуоли, мелкоточечные или в виде щетки помутнения в области шва;

2 степень – интенсивные помутнения диффузного характера в ядерной зоне, средних и задних корковых слоях;

3 степень – сливные помутнения задних субкапсулярных слоев ядра и коры, передние субкапсулярные слои полупрозрачны;

4 степень – тотальное помутнение хрусталика.

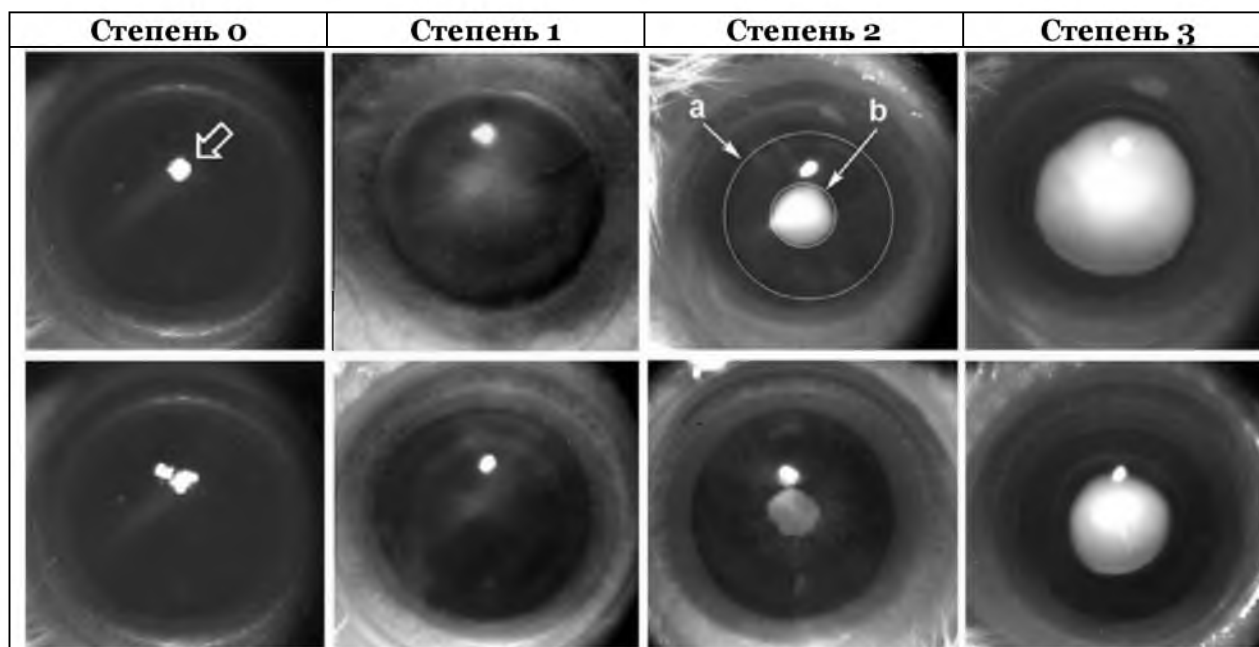


Рис. 1. Степени поражения хрусталика глаза при визуальной оценке:

1) в столбцах – степень поражения, ряды показывают верхнюю и нижнюю границу каждой степени; 2) стрелка показывает блик от фотовспышки; 3) а – граница области линзы хрусталика; б – ядерная граница непрозрачности.

Инструментальное измерение потока основывалось на анализе цифровых фотографий (256 градаций шкалы серого, 360 пикселей/дюйм.), изображения были приведены к стандартному отношению яркости/контраста и проанализированы с программным обеспечением «Видео Тест Морфология 3.0»

В качестве основного критерия при инструментальной оценке был выбран «Объем» непрозрачности линзы хрусталика, то есть интенсивность пикселей в суммарном выражении в области ядра хрусталика. Для более легкого понимания интенсивность была выражена как сумма пикселей, разделенная на 10 000.

Результаты подвергали статистической обработке путем расчета средней арифметической (M), ошибки средней арифметической ($\pm m$) и оценки достоверности различий сравниваемых параметров по критерию t-test для групп с разными дисперсиями.

Результаты исследований. При моделировании селенитовой катаракты в контрольной группе животных, не получавших лечения, наблюдалось выраженное, хорошо видимое помутнение хрусталика у всех крыс.

При применении глазных капель № 1, 2 и препарата сравнения – глазных капель «Тауфон» – с первого дня после введения селенита натрия в дозе по 1 капле субконъюнктивально в каждый глаз в течение всего периода наблюдения отмечался выраженный терапевтический эффект. При этом во всех группах, получавших препарат, при визуальной оценке распределение по степени поражения хрусталика достоверно не отличалось, только у одной крысы из 10 в группе леченной глазными каплями № 1 наблюдалось практически полное отсутствие помутнения хрусталика, в остальных случаях поражение соответствовало степени 2-3 (рис. 2).

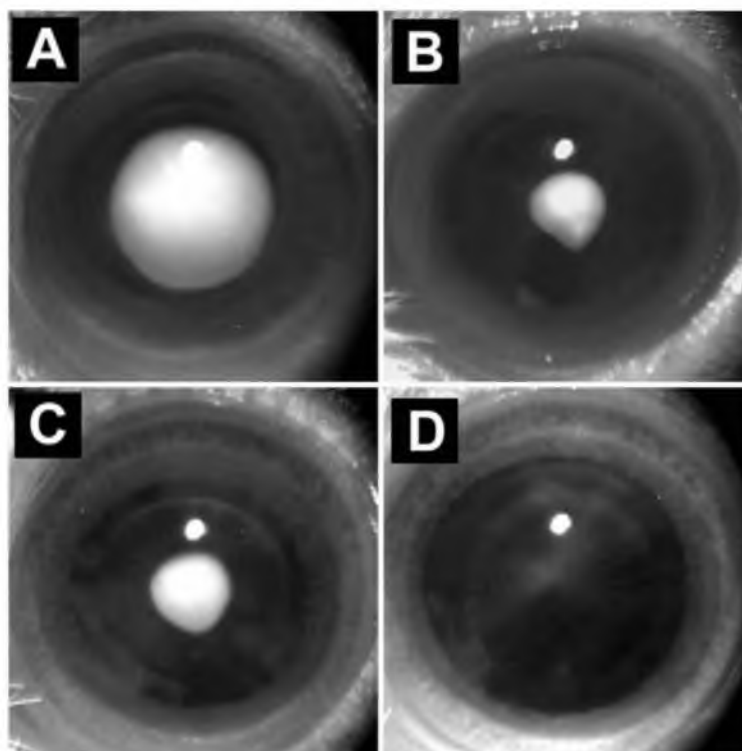


Рис.2. Результаты изучения глазных капель:

А – контрольная группа; В – группа леченная глазными каплями № 2; С – группа леченная глазными каплями «Тауфон»; D – единичный случай отсутствия помутнения хрусталика в группе, леченной глазными каплями № 1.

В табл. 1 представлены средние значения степени повреждения хрусталика в группах, получавших лечение глазными каплями № 1, 2 и препаратом сравнения – глазными каплями «Тауфон».

Таблица 1

Степень повреждения хрусталика глаза крысы при моделировании селенитовой катаракты и применении глазных капель № 1, 2 и «Тауфон» (M±m, n=10)

	Контроль	№1	№2	Тауфон
M±m	3,8±0,2	2,0±0,3*	2,3±0,3*	2,5±0,2*

Примечание: *– при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой

Для более точного определения эффективности терапии была использована морфометрия при помощи программы «Видео Тест Морфология 3.0» по критерию «Объем» помутнения хрусталика.

При морфометрическом анализе изображения было выявлено, что наибольшей активностью обладают глазные капли № 1 (рис. 3).

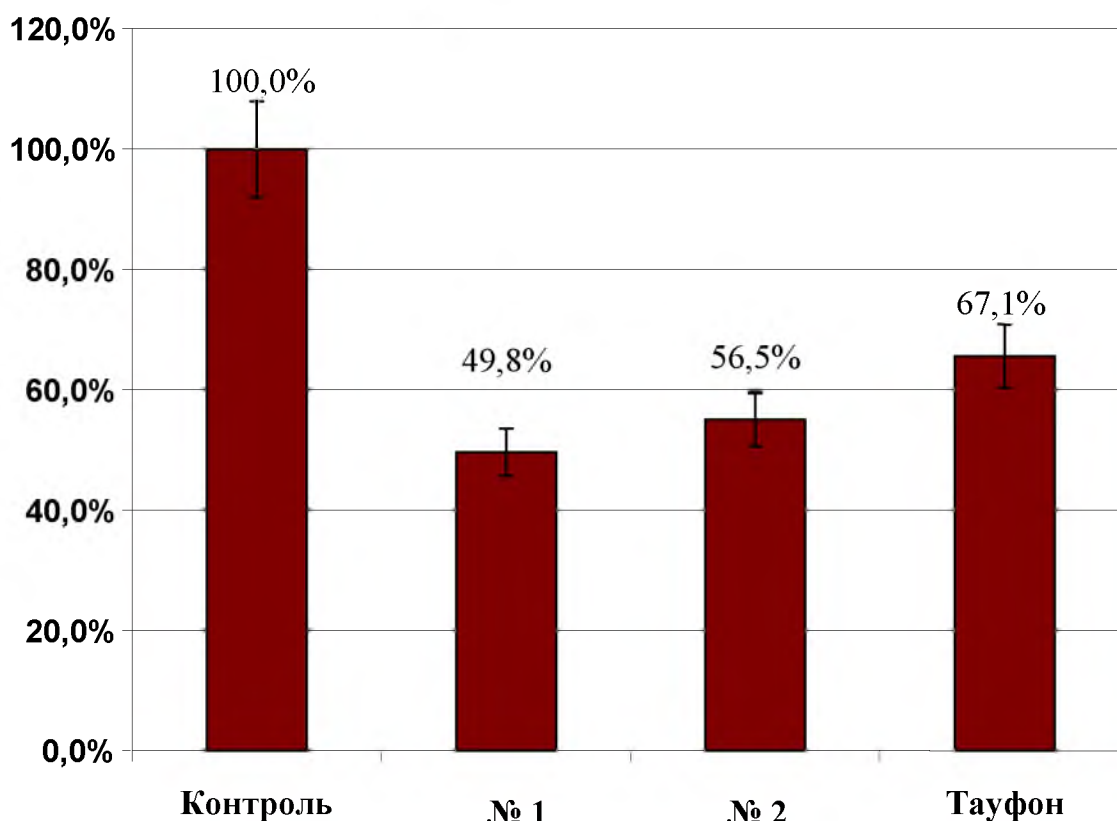


Рис. 3. Плотность помутнения в хрусталике глаза крыс при применении модельных глазных капель и глазных капель «Тауфон»

Исходя из данных, представленных на рис. 3 и в табл. 2, 3, применение глазных капель № 1 позволяет получить наиболее выраженный эффект, при этом степень помутнения хрусталика ниже, чем при применении препарата сравнения «Тауфон», примерно на 17,3% и на 6,7% ниже, чем при применении модельных глазных капель.

Таблица 2

Результаты визуального определения фармакологической активности изучаемых глазных капель

	№ животного	Контроль	№1	№2	Тауфон
			Дозировка		
			По 1 капле в каждый глаз 3 раза в день	По 1 капле в каждый глаз 3 раза в день	По 1 капле в каждый глаз 3 раза в день
Степень повреждения на 7-е сутки применения препарата	1	4	0	2	3
	2	4	2	3	2
	3	4	2	3	3
	4	3	2	2	2
	5	4	3	3	3
	6	4	3	2	3
	7	4	2	2	3
	8	4	3	2	3
	9	3	3	3	2
	10	4	3	2	2
	Среднее (M±m)	3,8±0,2	2,3±0,3*	2,4±0,2*	2,6±0,2*

Примечание: * – при $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Таким образом, исследование фармакологической активности глазных капель на основе субмикроструктурированного таурина выявило их высокую эффективность в



качестве антикатарального средства, при субконъюнктивальном применении которого наиболее активен препарат № 1.

Резюме. Приведенные данные дают основание утверждать, что изучаемые модельные глазные капли на основе субмикроструктурированного таурина обладают выраженным защитным эффектом при визуальной оценке прозрачности хрусталика, не уступающим препарату сравнения – глазным каплям «Тауфон».

При анализе изображения хрусталика выявлено, что изучаемые модельные глазные капли на основе субмикроструктурированного таурина № 1 обладают наибольшей эффективностью среди представленных на исследование препаратов.

Таблица 3

Результаты анализа изображения хрусталика глаза крыс при изучении фармакологической активности изучаемых глазных капель

	№ животного	Контроль	№1	№2	Тауфон
			Дозировка		
			По 1 капле в каждый глаз 3 раза в день	По 1 капле в каждый глаз 3 раза в день	По 1 капле в каждый глаз 3 раза в день
Степень повреждения на 7-е сутки применения препарата	1	2,30	0,09	1,21	1,98
	2	2,92	1,21	1,50	1,23
	3	3,01	1,14	1,48	1,48
	4	1,98	1,18	1,07	1,57
	5	2,98	1,30	1,50	2,15
	6	2,40	1,75	1,68	2,11
	7	2,53	1,41	1,35	1,25
	8	2,12	1,94	1,55	1,67
	9	2,14	1,23	1,27	1,37
	10	2,48	1,16	1,11	1,55
	Среднее (M±m)	2,48±0,12	1,24±0,10*	1,37±0,06*	1,64±0,11*

Примечание: * – при $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Работа выполнена в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг., Государственный контракт № 14.740.11.0119 от 08.09.2010 г. «Комплексные фармакологические и технологические исследования ряда субмикроструктурированных (наноструктурированных) фармацевтических субстанций с доказанными измененными физико-химическими свойствами».

Литература

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева. – М., 2005. – 832 с.
2. Панов, С. Лечение в нанодиапазоне / С. Панов [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://medstatia.ru/nanotechnology-v-medicine/>
3. Кузив, Т. Наночастицы: безопасны ли они? /Т. Кузив [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.mgzt.ru/article/844/>
4. Приказ МЗ СССР № 1179 от 10 октября 1983 г. «Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения».



STUDYING OF PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF SUBMICROSTRUCTURED SUBSTANCE OF TAURINE

**V.I. KOCHKAROV
O.O. NOVIKOV
E.T. ZHILYAKOVA
M.Yu. NOVIKOVA
O.S. VORONKOVA**

Belgorod National Research University

e-mail: novikov@bsu.edu.ru

It is established that the model eye drops with submicrostructured substance of taurine have a pronounced protective effect on the visual evaluation of lens transparency, not worse than the drug under comparison, eye drops, "Taufon".

Key words: taurine, submicrostructuring, cataract.