

СОПРЯЖЕННОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ С ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ РЕЛИЗ-АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Денисов Ю.Д., Джайнакбаев Н.Т.

Казахстанско-Российский Медицинский университет

Алматы, Республика Казахстан

yuriagnostic@yandex.ru

Использование препаратов в сверхмалых дозах (СМД - с декабря 2017 года – у данных соединений новое название: релиз - активных соединений) затруднено отсутствием возможности достоверного изучения фармакокинетических характеристик данного класса соединений в биологических жидкостях и тканях организма человека и животных. К настоящему времени появились новые физико-химические методы, описывающие свойства релиз – активных соединений в водных растворах. Однако, с позиции биологов и медиков, возникают много вопросов и противоречий при использовании этих методов в биологических исследованиях. Преодоление этих противоречий позволит стандартизовать свойства препаратов в сверхмалых дозах и использовать физико – химические методы в биологических исследованиях и клинической практике релиз – активных соединений. Кроме того, понимание фармакокинетических характеристик может дать возможность получить инструменты для объяснение некоторых фармакодинамических характеристик, в частности, механизм действия релиз – активных соединений (РАС). Только понимая особенности физико-химических свойств РАС в тканях и клетках организма можно объяснить влияние препаратов в СМД на межклеточное вещество, а через него и влияние РАС на рецепторы мембран клеток. Данный вопрос обсуждается в данной статье на примере полученных результатов одним из авторов и описанном в предыдущих публикациях.

Целью данной работы был анализ работ, посвященных поведению высоко-разбавленных водных растворов и возможности воспользоваться данной информацией для обоснования биологических эффектов ксенобиотиков в СМД как в норме, так и при модельной патологии.

Ключевые слова: сверхмалые дозы, релиз – активные соединения. Физико-химические свойства, биологические объекты

The conjugation of biological effects with the physicochemical properties of release - active compounds

Denisov Yu. D., Jainakbayev N.T.

The use of drugs in ultra-low doses (ULD - since December 2017 - these compounds have a new name: release - active compounds) is complicated by the lack of the possibility of a reliable study of the pharmacokinetic characteristics of this class of compounds in biological fluids and tissues of the human and animal body. By now, new physicochemical methods have appeared that describe the properties of release - active compounds in aqueous solutions. However, from the position of biologists and physicians, many questions and contradictions arise when using these methods in biological research. Overcoming these contradictions will allow standardizing the properties of drugs in ultra-low doses and using physicochemical methods in biological research and clinical practice of release-active compounds. In addition, understanding the pharmacokinetic characteristics can provide the opportunity to obtain tools for explaining some pharmacodynamics characteristics, in particular, the mechanism of action of release-active compounds (RAS). Only by understanding the features of the physicochemical properties of the RAS in the tissues and cells of the body can one explain the effect of drugs in the ULD on the extracellular substance, and through it the effect of the RAS on the receptors of the cells membranes. This issue is discussed in this article using the example of the results obtained by one of the authors and described in previous publications.

The aim of this work was to analyze the works devoted to the behavior of highly dilute aqueous solutions and the possibility of using this information to substantiate the biological effects of xenobiotics in ULD both in normal conditions and in model pathology.

Key words; *ultra-low concentrations, release - activity compounds, physic - chemical properties, biological effects*

История интереса к феномену сверхмалых доз уже насчитывает более 30 лет. Ее начало было положено российскими исследователями во главе с Е.Б. Бурлаковой [1]. На конец 90-х годов в базе данных сайта Medline было опубликовано более 1200 источников [7]. При этом, были изучены основные классы фармакологических средств – от противовоспалительных препаратов до психотропных. Изучались также гормоны, вакцины и антиоксиданты. При, казалось бы, удачном старте исследований, в последнее время вновь снизился интерес к данной проблеме. По словам одних это, в лучшем случае, ятрогенное действие, в худшем – обман потребителя. И главной проблемой в противодействии такому отношению к использованию препаратов в сверхмалых дозах (СМД) является отсутствие возможности контроля за фармакокинетикой препаратов в СМД. И, конечно, отсутствие достаточно понятного объяснения механизма действия. Можно напомнить, что к 2014 году было предложено 15 гипотез механизма действия. Но ни одна не объясняет полностью эффекты СМД.

И, тем не менее, исследования в этой области, как и создание новых препаратов в СМД (с декабря 2017 года они будут называться релиз – активными препаратами) были признаны актуальными и перспективными [2].

Целью данной работы был анализ работ, посвященных поведению высокоразбавленных водных растворов и возможности воспользоваться данной информацией для обоснования биологических эффектов ксенобиотиков в СМД.

Наиболее яркими и глубокими статьями, по нашему мнению, являются статьи А.И. Коновалова (3), а также его сотрудников и учеников (5,6). Авторами был проанализирован процесс высокого разбавления растворов 60 соединений, в концентрациях 10^{-2} – 10^{-20} М. При этом, растворы исследовались на физико - химические показатели: поверхностное натяжение, электропроводность и электрокинетический потенциал (ξ – потенциал). Было доказано, что вещества в сверхмалых дозах (концентрациях) образуют наноассоциаты [3.5-6]. Этот скрининг дал возможность разделить все соединения на две неодинаковой группы – 25% соединений вели себя как классические растворы, а вторая группа – 75%, соединения которых не вписывались в классические характеристики растворов. Возникает вопрос: а не является классическое поведение растворов соединений, обозначенных как «классические» результатом химических свойств данных соединений, например, гидрофильными свойствами данных соединений, а группа соединений, обозначенных как соединения с «неклассическим поведением» обладает гидрофобными

свойствами? Для понимания биологических эффектов этот вопрос не очень важен, а в ключе поведения высокоразбавленных растворов и их физико-химических свойств, видимо, играет важную роль. С точки зрения физиологических исследований влияния релиз – активных препаратов (в нашем случае, высокоразбавленных растворов), изучение растворения соединений в воде не столь важно: дело в том, что препараты вводятся в организм экспериментальных животных и человека в физиологическом растворе, а не в водном растворе. Кроме того, физико-химические свойства высокоразбавленных растворов проводились в дистиллированной воде, а в организме любого животного, как и человека, дистиллированной воды нет. Даже если предположить, что «структурированная вода» (9) очень похожа на дистиллированную, но и это нужно доказать. Все высказанные сомнения не являются косвенным отрицанием высокого уровня работы, а лишь желанием понять возможность использования, как результатов исследования, так и методов и аппаратуры в биологических исследованиях.

Еще один серьезный вопрос. Было доказано [1], что существует коридор доз ($10^{-8} - 10^{-12}M$), в котором ни один препарат не обладает активностью. А в статье (3) приводится концентрация соединений $10^{-6}M$ вещества – поверхностное натяжение и электропроводность – в этой концентрации стабильны и близки к таковым у воды. Следовательно, эффективность растворенного вещества равна активности воды. Таким образом, можно предположить, что «мертвая зона – «dead zone» - начинается при концентрации вещества $10^{-6}M$, а не при концентрации вещества $10^{-8}M$. Однако, экспериментальные данные, в том числе и наши [4], показали, что «мертвая зона» наблюдается при концентрации вещества $10^{-8} - 10^{-12} M$. Таким образом, возможно, что поверхностное натяжение не принимает участия в формировании ответа биологического объекта на низкие концентрации ксенобиотиков.

Принципиально важный вопрос, поднятый автором – образование наноассоциатов при последовательном разведении веществ до сверхмалых концентраций. Но главное, доказанный инструментально, феномен! Но и здесь возникают вопросы для обдумывания и обсуждения. Согласно полученным данным [3,5-6] при последовательном разведении образуются наноассоциаты веществ, последовательно растворенных. При этом, в зависимости от структуры вещества, наноассоциаты не разрушаются от 1 до 15 месяцев [5]. Это качество можно соизмерить со

сроком годности препаратов. Ведь только в этом периоде возможна биологическая активность соединений. Данная характеристика важна, когда речь идет о стандартизации лекарственных препаратов.

Однако, более важным свойством, обозначающим не только эффективность и отношения данного вещества к определенному классу фармакологических соединений, является механизм действия данного препарата. На данное время известно не менее 15 гипотез о механизме действия. К сожалению, ни одна из гипотез не объясняет всех свойств соединений в сверхмалых дозах. С другой стороны, из-за размеров наноассоциатов и сверхмалой концентрации вещества, вопрос о воздействии их на рецепторы мембран, как и рецепторов других органоидов клетки, по-видимому, исключается – молекула рецептора настолько велика, как и сайт взаимодействия рецептора и лиганда несоизмерим по величине, что взаимодействие релиз - активных препаратов с ними невозможны. Следовательно, стандартная модель действия биологически – активных соединений и других лекарственных препаратов едва ли будет работать.

Все это говорит о том, что вектор действия релиз - активных препаратов возможен только в межклеточном веществе и цитоплазме органов – мишеней. Логика такого подхода в следующем: так как размеры наноассоциатов таковы, что они проникают без особых энергетических затрат (отсутствие активного транспорта вещества, отсутствие транспорта с помощью транспортных белков - например, альбуминов, транспортирующих жирные кислоты и, наконец, перенос через мембрану по типу $K^{++} Na^{+}$ - АТФаз – « $K^{+}Na^{+}$ - помпа») практически в любую точку клетки. Следовательно, воздействие релиз - активных препаратов через межклеточное вещество и цитоплазму должно иметь другую интерпретацию действия. При этом, скорее всего, поверхностное натяжение и электропроводность молекул не является основным фактором механизма действия через межклеточное вещество и цитоплазму. Возможно, эффект релиз – активных препаратов сводится к изменению энтальпических характеристик межклеточного вещества. И, как следствие, изменение пространственного строения мембранных рецепторов. А дальше их активация (ингибирование) и рецепторный ответ.

Вопрос о механизме действия вышеуказанных препаратов давно был в сфере наших интересов. Было проведено модельное исследование действие сапонина в разных малых и сверхмалых концентрациях [4]. Объектом исследования были эритроциты крови человека. Межклеточным веществом служила сыворотка той же крови. Кроме того, исследовано воздействие биологически-активных соединений в

СМД на гемопоэтические стволовые клетки. Было доказано, что в отсутствие межклеточного вещества сапонины не действовали на клетки крови. Кроме того было подтверждено существование «мертвой зоны» в периоде концентраций $2,3 \cdot 10^{-8}$ – $2,3 \cdot 10^{-12}$ М. Те же результаты были получены нами на гемопоэтических стволовых клетках.

Весь пафос статьи, анализ некоторых расхождений в понимании полученных данных академика А.И. Коновалова и его учеников, а также результатов фармакологов и биохимиков сводится к главной мысли – как использовать, а точнее, объединить полученные данные двух направлений в понимании как действуют релиз – активные препараты в разных сверхмалых концентрациях. И, как следствие, новое направление в фармакологии. Однако, это прекрасное будущее фармакологии – с высокой эффективностью, с синергизмом при совместном использовании СМД и обычными, средне – терапевтическими, дозами, но с полным отсутствием побочных эффектов от терапии. Для реализации этого будущего и нужны совместные исследования физико - химиков, фармакологов, токсикологов и т.д.

Что же может дать фармакологу знание таких характеристик как спектральные характеристики водных растворов биологически-активных веществ (БАВ), их электропроводность и ξ - потенциала, поверхностного натяжения молекул БАВ при высоком разведении растворов?

Во-первых, возможность образовывать наноассоциаты показывают, как и ξ - потенциал, так и электропроводность. Спектральные характеристики позволяют достоверно знать о чистоте фармакологического агента. Кроме того, знание других физико – химических характеристик позволяет промоделировать возможность взаимодействия БАВ (как и других препаратов) в СМД с самой мембраной клеток, как в контроле, так и при экспериментальной патологии. В наших предыдущих работах (10-12) мы показали, что нестероидные противовоспалительные препараты, интерлейкины и статины в СМД меняют количественный состав жирных кислот фосфолипидов мембран клеток сердца, печени и почек у крыс с экспериментальным миокардитом. Он также меняется и в межклеточном веществе и цитоплазме клеток, но иначе, чем в мембранах.

Эти результаты подтверждают, хотя и косвенно, что межклеточное вещество меняет количественный состав фосфолипидов мембран клеток, что приводит к изменению ответа клеток на действие лекарственных препаратов. Естественно, менялась и симптоматика экспериментального миокардита в сторону затухания воспалительного процесса.

Имея информацию о физико-химических характеристиках действующего вещества, можно обсуждать возможные механизмы действия препаратов в СМД. На наш взгляд, наиболее эффективным фактором, объясняющим эффективность релиз - активных веществ, является ξ - потенциал. А электропроводность, поверхностное натяжение может объяснить физико – химические свойства мембран.

Для стандартизации действия релиз - активных препаратов необходимо понять и правильно использовать термин «биоэффекты». Самым важным является понимание не самого эффекта (например, в статье [3] автор сравнивает биоэффекты с физико- химическими свойствами растворов. При этом не упоминаются, о каких конкретно биоэффектах идет речь, что именно меняется в ответ на воздействие растворов. А ведь очень важны количественные характеристики этих самых биоэффектов. Одно дело, если изучаются эффекты релиз – активных веществ на культуре клеток и совсем другое, когда они исследуются в организме животного! Один уровень значимости, когда мы говорим, что данное вещество сильнее действует на биообъект, а совсем другое, когда мы говорим, что оно эффективнее на Δ или $n\%$ ($p \leq 0,005$). Безусловно, на каждое вещество необходима своя модель для определения биологической активности. Поэтому и необходимо стандартизовать объекты и методы определения биологической активности.

В своей статье А.И. Коновалов [3,6] поставил много вопросов для дальнейших исследований. Много загадок. Нам хотелось бы прибавить еще один вопрос, требующий изучения и разрешения. Мы изучали воздействие нанопрепаратов (фуллерены C_{60-80}) в разных СМД на уровень жирных кислот в мембранах клеток разных органов – мишеней при экспериментальном миокардите [13]. Оказалось, что нанопрепараты активны в сверхмалых дозах и меняют количественный состав жирных кислот в фосфолипидах мембран. Вектор изменений подобен таковому при действии нестероидных противовоспалительных препаратов.

И возникают вопросы: действие нестероидных противовоспалительных препаратов в СМД и фуллеренов, в тех же концентрациях, имеют общий механизм действия? Как объяснить, что нанопрепараты действуют в сверхмалых дозах? Что является общим у этих, в общем-то, разных по химическому строению, ксенобиотиков, если в СМД они действуют по одному вектору? И возможен ли общий механизм действия у разных, по химическому строению, препаратов (и БАВ) при СМД после определенной концентрации (например, после $10^{-14}M$)?

Таким образом, анализ использования физико – химических методов для понимания как химических, так и биологических эффектов релиз – активных соединений приводит к следующим выводам

1. Новые подходы в изучении релиз – активных соединений, используемые как в физико – химических, так и в биологических исследованиях требуют стандартизации - как по типу исследований, так и по биологической модели, используемой для конкретного типа соединений;
2. Данные физико-химических исследований помогают в изучении не только механизма действия БАВ и лекарственных препаратов, но и в изучении поведения мембран при действии релиз - активных соединений.

Список литературы

1. Бурлакова Е.Б., Кондратов А.А., Худяков И.В.- Известия Академии АН СССР.- сер. Биология. – 1990.- № 2. – С.184 – 190.
2. URL: <http://con-med.ru/news/novomu-lekarstvennykh-preparatov-byt/> Портал Consilium Modicum (Дата обращения 21.07.2019)
3. Коновалов А.И. Образование наноразмерных молекулярных ансамблей в высокоразбавленных водных растворах».- Вестн. Росс..Акад.наук.-2013.- Т. 83.- N 12.-1076-1082.
4. Денисов Ю.Д. «межклеточное вещество - компартмент реализации механизма действия сверхмалых доз ксенобиотиков. – Успехи современного естествознания.-2015.-N 5.- 114 – 120.
5. Рыжкина И.С., Муртазина Л.И., Киселева Ю.В., Коновалов А.И. Свойства супрамолекулярных наноассоциатов, образующихся в водных растворах низких и сверхнизких концентраций биологически активных веществ.- доклады академии наук. – 2009.- т. 428.- № 4.- С.487 – 491.
6. Коновалов А.И., Рыжкина И.С. Образование наноассоциатов – ключ к пониманию физико – химических и биологических свойств высокоразбавленных водных растворов.- Известия Академии наук. Серия химическая.- 2014.- № 1.- С.1 – 14.
7. URL: <http://www.medline.com> (Обращение:21.07.2019)
8. Бурлакова Е.Б., Кондратов А.А., Мальцева Е.Л.- Хим.физика.-2003.- т.22.- №2.- С.21 – 26.
9. Галль Л. В мире сверхмалых. Нелинейная квантовая биоэнергетика: новый взгляд на природу жизни.-2009.- 307 С.

10. Денисов Ю.Д. Влияние диклофенака в разных сверхмалых концентрациях на количественный состав жирных кислот фосфолипидов мембран при экспериментальном миокардите у крыс// Материалы 6-го Международного конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». Санкт-Петербург.-2012.- С 72.
11. Денисов Ю.Д., Северова Е.А., Поминова Н.М. Сравнительный анализ влияния цитокинов и нестероидных противовоспалительных препаратов в сверхмалых дозах на уровень жирных кислот фосфолипидов мембран клеток крыс при экспериментальном миокардите// Материалы 6-го Международного конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». Санкт-Петербург.-2012.С - 73.
12. Денисов Ю.Д., Влияние диклофенака в разных сверхмалых концентрациях сверхмалых концентрациях на количественный состав фосфолипидов мембран при экспериментальном миокардите у крыс // www.biophys.ru/archive/congress2012/proc-p72.htm - ISBN 5-86456-007-3
13. Денисов Ю.Д.- Влияние фуллеренов C₆₀₋₈₀ в сверхмалых дозах на уровень жирных кислот фосфолипидов мембран при экспериментальном миокардите.- VII Международный конгресс Слабые и сверхслабые излучения в биологии и медицине. Санкт – Петербург, 07-09. 2015г - Научные труды. С.141.