

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ИМПУЛЬСНЫМ МАГНИТНЫМ ПОЛЕМ ВЫСОКОЙ НАПРЯЖЕННОСТИ

Роденко Н.А., Васильева Т.И., Беляева И.А.

Самарский университет

ул. Московское шоссе, 34, г. Самара, 443086, РФ e-mail: t.rodenco@mail.ru

Поступила в редакцию: 09.07.2019

Аннотация. В работе рассматривается изменение антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли и антиагрегационной активности пентоксифиллина при воздействии на лекарственные препараты импульсным магнитным полем (ИМП) высокой напряженности. Обнаружено усиление антибактериальных свойств бензилпенициллина и антиагрегационной активности пентоксифиллина, облученных импульсным магнитным полем при определенных значениях напряженности, частоты и количества импульсов. Выдвинута гипотеза повышения антибактериальной и антиагрегационной активности облученных лекарственных препаратов, являющихся антимаболитами, связанная с изменением конформации молекул и увеличением их сродства к активному центру соответствующих ферментов. Проведены исследования по изучению безопасности облучения бензилпенициллина натриевой соли и пентоксифиллина ИМП. Изучались влияние импульсного магнитного поля на возможность образования свободных радикалов данных лекарственных препаратов и острой токсичности при внутрибрюшинном введении мышам бензилпенициллина натриевой соли и пентоксифиллина до и после обработки импульсным магнитным полем с расчетом и сопоставлением показателей LD₅₀.

Ключевые слова: бензилпенициллина натриевая соль, пентоксифиллин, антибактериальная активность, антиагрегационная активность, импульсное магнитное поле.

В большом количестве работ представлены данные о воздействии постоянного и переменного магнитного поля на простые молекулы, воду, полимеры и другие биологические системы [1-8].

В последнее время в технике получают применение ИМП для осуществления операций штамповки, сборки, сварки [9]. В этих технологиях используются ИМП, возникающие в результате разряда батареи конденсаторов на индуктор (катушку) [10]. Вокруг витков токопровода индуктора возникает и распространяется ИМП.

При реализации магнитно-импульсных технологий используют многократное нагружение однократными импульсами синусоидальной формы с различными временными интервалами в пачке.

Цель настоящего исследования – изучение влияния ИМП высокой напряженности на антибактериальную и антиагрегационную активность лекарственных препаратов и исследование безопасности применения.

Бензилпенициллина натриевая соль и пентоксифиллин облучались импульсным магнитным полем с параметрами напряжения от 0,45 до 6,14 кДж и различном количестве импульсов, используя индукторы – одновитковый и многовитковый.

На рисунке 1 представлена схема воздействия ИМП на лекарственные препараты, размещенные в стандартном флаконе. Стенд для проверки предлагаемого способа, содержит индуктор 1, генератор импульсного тока 2, датчик импульсного магнитного поля (ИМП) 3 и осциллограф 4. Датчик ИМП 3 подключен к осциллографу 4. В индуктор 1 устанавливают флакон 5 с бензилпенициллина натриевой солью (6), после чего проводится её обработка ИМП.

Оценка **антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли** осуществлялась методом диффузии агар [11]. Последовательность процесса подготовки и проведения экспериментов с облученной бензилпенициллина натриевой солью приведена на рисунке 2.

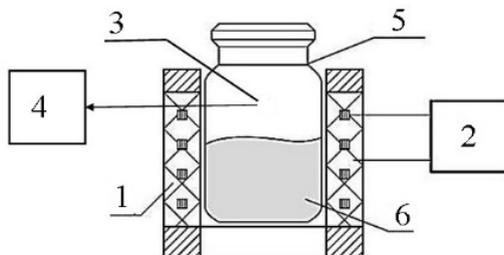


Рисунок 1. Схема воздействия ИМП на бензилпенициллина натриевую соль

Воздействие ИМП на порошок или раствор антибиотика.	Разведение антибиотика до нужной концентрации, распределение по поверхности чашки Петри по 0,1 мл инокулянта <i>Escherichia coli</i> .	Размещение дисков на поверхности чашки и нанесение на них 10 мкл раствора антибиотика.	Размещение чашек Петри в термостат при температуре 30 °С в течение 18 часов.	Измерение зон лизиса.
---	--	--	--	-----------------------

Рисунок 2. Процесс подготовки и проведения экспериментов

Антиагрегационная активность пентоксифиллина изучалась методом тромбоэластометрий [12]. Оценивалось влияние обработки магнитным полем разных характеристик пентоксифиллина на изменение механико-физических характеристик прочности сгустка методом тромбоэластографий. Эксперименты в условиях *in vitro* выполнены на крови здоровых доноров-мужчин в возрасте 18-24 лет. Общее количество доноров составило 12 человек.

Изучение появления свободных радикалов в облученных препаратах оценивали в простых модельных системах, имитирующих наиболее распространенные реакции свободно-радикального окисления в организме и в средах, в которых инициировалось образование активных форм кислорода и реакции перекисного окисления липидов. Регистрацию свечения проводили на хемилюминомере «ХЛМ-003» (Россия). В качестве препарата сравнения была выбрана аскорбиновая кислота с антиоксидантной активностью. Для выявления активных форм кислорода использовали люминол (5-амино-2,3-дегидро-4-фталазиндион), который окисляется и образует электронно-возбужденные карбонильные хромофоры с высоким квантовым выходом, в результате чего резко повышается интенсивность свечения, связанного с образованием активных форм кислорода. Хемилюминесценцию регистрировали в течение 5 минут.

Для инициации активных форм кислорода (модель I) использовали 20 мл фосфатного буфера с добавлением цитрата и люминола. Состав буфера: 2,72 г. KH_2PO_4 , 7,82 г. KCl , 1,5 г. цитрата натрия $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7\text{Na}_3 \cdot 5,5\text{H}_2\text{O}$ на 1 литр дистиллированной воды. Величину pH полученного раствора доводили до 7,45 ед. титрованием насыщенным раствором КОН и добавляли 0,2 мл маточного раствора люминола (10^{-5} М). Образование АФК инициировали введением 1 мл 50 мМ раствора сернокислого железа.

Для оценки действия соединений на перекисное окисление липидов (модель II) из куриного желтка готовили липопротеиновые комплексы. Желток смешивали с фосфатным буфером в соотношении 1:5, затем гомогенизировали. Хемилюминесценцию инициировали добавлением 1 мл 50 мМ раствора сернокислого железа, запускавшего процесс окисления ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав липидов. По интенсивности развивающегося свечения судили о процессах перекисного окисления липидов.

Проведение **токсикологических исследований** в условиях *in vivo* осуществляли на 80 белых мышах самцах в возрасте 2 месяцев со средней массой тела 20-21 г. при внутрибрюшинном способе введения. Животные прошли карантин в течение 14 дней в условиях отдельного бокса вивария. Температурный режим помещения вивария поддерживался от +18 до +22°C. Освещение вивария совмещенное (естественное и люминесцентное). Ежедневно в помещении вивария проводилась 20 мин. бактерицидная обработка стационарным настенным бактерицидным облучателем. Животные имели круглосуточный свободный доступ к поилкам, получали набор натуральных продуктов (овощи, зерно) и стандартную диету, представленную в виде экструдированного гранулированного корма для содержания лабораторных животных (мышей, крыс, хомяков).

При проведении исследований на белых беспородных мышах при внутрибрюшинном введении вещества исследовали в дозах 100, 150, 200, 250, 275, 300 мг/кг. Количество вводимого вещества рассчитывали по объему введенного раствора в зависимости от массы тела с учетом максимально допустимого количества жидкости. Контрольная (интактная) группа животных включена в эксперимент для проведения сравнительной оценки состояния и поведения этих особей и подопытных животных. Данная группа животных по окончании первых суток наблюдений исключалась из эксперимента. Наблюдение за опытными группами проводилось в течение 14 суток.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При обработке ИМП порошкообразного бензилпенициллина натриевой соли наблюдается рост диаметров лизиса на 12-24% и, следовательно, можно констатировать увеличение ее антибактериальной активности (рис. 3).

В результате экспериментальной работы по изучению антиагрегационной активности установлено, что обработка пентоксифиллина импульсным магнитным полем с напряжением $U = 3$ кВ способствует удлинению показателя R, ответственного за клоттинговую часть коагуляции, на 23,4% относительно интактного пентоксифиллина ($p < 0,05$). Сгусток по механико-физическим характеристикам становится рыхлым, неполноценным – показатель G снижается практически в 1,5 раза ($p < 0,001$), что приводит к смещению общего коагуляционного потенциала в сторону гипокоагуляции (CI принимает отрицательное значение) (табл. 1).

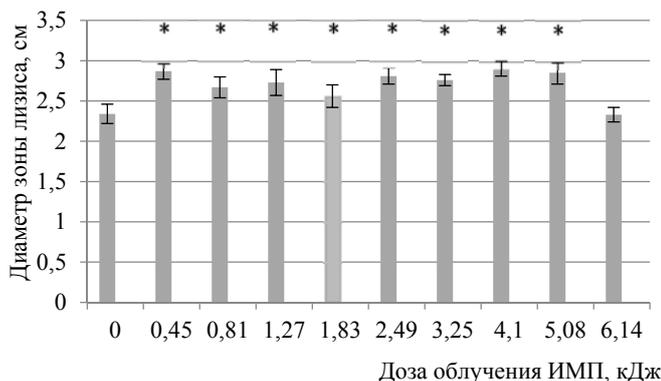


Рисунок 3. Диаметры зон подавления роста *E. coli* при воздействии бензилпенициллина натриевой соли, порошок, которого облучали ИМП с энергиями от 0,45 до 6,14 кДж при количестве импульсов 1 с одновитковым индуктором

Примечание: * - отличия диаметра зоны подавления роста *E. coli* при воздействии бензилпенициллина, облученного ИМП, от контроля достоверны с уровнем значимости $P < 0,05$

Проведены исследования изучению безопасности лекарственных препаратов. Изучалось образование свободных радикалов облученных лекарственных препаратов методом хемилюминесценции. Эксперименты осуществляли на простых модельных системах, имитирующих наиболее распространенные реакции свободно-радикального окисления в организме и в средах, в которых инициировалось образование активных форм кислорода и реакции перекисного окисления липидов. Регистрацию свечения проводили на хемилюминометре «ХЛМ-003» [13].

Установлено, что обработка импульсным магнитным полем лекарственных препаратов не вызывала активацию хемилюминесценции по сравнению с контролем, а значит образования свободных радикалов не происходило.

Изучалось изменение острой токсичности [14] бензилпенициллиновой соли под воздействием магнитного поля проведены на 80 белых мышах самцах в возрасте 2 месяцев со средней массой тела 20-21 г. при внутрибрюшинном способе введения. Результаты экспериментов представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1. Показатели тромбоэластографии при действии пентоксифиллина в условиях *in vitro*, обработанным магнитным полем

Показатель	Контроль	Пент	Пент U=4 кв	Пент U=3 кв	Пент U=1 кв
R, min	12,8 (10,3-15,6)	14,6 (13,2-15,8)	13,8 (11,6-14,2)	17,5 (16,3-19,1)*, ^α	13,4 (12,6-14,3)
Angle, deg	44,7 (39,8-49,4)	33,7 (29,6-35,2)*	32,5 (31,5-35,3)*	33,1 (31,4-36,5)*	34,7 (32,1-36,5)*
MA, mm	57,3 (54,2-61,2)	41,8 (39,8-45,6)*	43,1 (40,8-46,9)*	42,6 (39,2-44,1)*	40,5 (38,6-42,3)*
G, dyn/cm ²	5,7 (4,5-8,1)	4,1 (3,6-4,4)**	3,7 (3,5-4,6)**	2,8 (2,6-3,1)**, ^β	3,9 (3,9-4,7)**
CI	1,4 (1,1-1,5)	0,5 (0,2-0,7)**	0,7 (0,3-0,9)**	-0,9 (-1,1 -0,5)**, ^β	0,8 (0,5-1,0)*

^α $p < 0,05$; ^β $p < 0,001$ - Пент. в сравнении с Пент. облуч. * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ - в сравнении с контролем.

Таблица 2. Показатели острой токсичности бензилпенициллина натриевой соли до и после обработки антибиотика ИМП при внутрибрюшинном введении мышам

Шифр	Бензилпенициллина натриевая соль (порошок)	Бензилпенициллина натриевая соль (порошок) при напряженности $H = 3418 \cdot 10^3$ А/м
LD ₅₀ , мг/кг	145,7	144,3

Таблица 3. Показатели острой токсичности пентоксифиллина до и после обработки антибиотика ИМП при внутривенном введении мышам

Шифр	Пентоксифиллин (раствор)	Пентоксифиллин (раствор) H = 3418·10 ³ А/м
LD ₅₀ , мг/кг	253,4	247,9

Установлено, что обработка магнитным лекарственных препаратов не сопровождается увеличением токсичности.

ВЫВОДЫ

- 1) Обнаружено усиление антибактериального воздействия бензилпенициллина, облученного импульсным магнитным полем при определенных значениях напряженности, частоты и количества импульсов.
- 2) При облучении пентоксифиллина ИМП зафиксировано увеличение антиагрегационной активности.
- 3) В препаратах бензилпенициллина натриевой соли и пентоксифиллина после их облучения ИМП свободных радикалов не обнаружено.
- 4) Воздействие импульсным магнитным полем на бензилпенициллина натриевую соль и пентоксифиллин не сопровождается увеличением токсичности.

Список литературы / References:

1. Новиков В.В. Действие комбинированных магнитных полей с очень слабой переменной низкочастотной компонентой на люминолзависимую хемилюминесценцию крови млекопитающих. *Биофизика*, 2015. т. 60, № 3, с. 530-533. [Novikov V.V. The effect of combined magnetic fields with a very weak variable low-frequency component on the luminol-dependent chemiluminescence of mammalian blood. *Biophysics*, 2015, vol. 60, no. 3, pp. 530-533. (In Russ.)]
2. Максимов Г.В., Наговицын А.В. Роль низкомолекулярных белков в реализации действия лазерного излучения и переменного магнитного поля на кровь. *Вестник Московского Университета*, 2009, № 3, с. 8-12. [Maksimov G.V., Nagovitsyn A.V. The role of low molecular weight proteins in the implementation of the action of laser radiation and an alternating magnetic field on blood. *Bulletin of Moscow University*, 2009, no. 3, pp. 8-12 (in Russ.)]
3. Pliss E.M. Magnetic field effect on the oxidation of organic substances by molecular oxygen. *Journal of Physical Organic Chemistry*, 2018, vol. 23, no. 16, pp. 3915-3927.
4. Усанов Д.А., Постельга А.Э., Усанов А.Д. Изменение диэлектрической проницаемости и тангенса угла диэлектрических потерь воды на СВЧ при совместном воздействии низкочастотного и постоянных магнитных полей. *Физика волновых процессов и радиотехнические системы*, 2009, т. 12, № 1, с. 34-38. [Usanov D.A., Postelga A.E., Usanov A.D. Change in the dielectric constant and the tangent of the dielectric loss angle of water on the microwave when combined with low-frequency and constant magnetic fields. *Physics of Wave Processes and Radio Engineering Systems*, 2009, vol. 12, no. 1, p. 34-38 (In Russ.)]
5. Песчанская С.Н., Синани А.Б. Влияние магнитного поля на скачки деформации наномасштаба в полимерах. *Физика твердого тела*, 2008, т. 50, № 1, с. 177-181. [Peschanskaya S.N., Sinani A.B. The effect of a magnetic field on jumps in the deformation of the nanoscale in polymers. *Solid State Physics*, 2008, vol. 50, no. 1, pp. 177-181. (In Russ.)]
6. Вшивков С.А., Русинова Е.В. Влияние магнитного поля на фазовые переходы в растворах производных целлюлозы. *Высокомолекулярные соединения*, 2008, т. 50, № 7, с. 1141-1149. [Vshivkov S.A., Rusinova E.V. The effect of a magnetic field on phase transitions in solutions of cellulose derivatives. *High Molecular Compounds*, 2008, vol. 50, no. 7, pp. 1141-1149. (In Russ.)]
7. Постников В.В. Качественная оценка возможного влияния слабого импульсного поля на микроструктуру биопластика. *Фундаментальные проблемы радиоэлектронного приборостроения*, 2013, т. 13, № 2, с. 186-188. [Postnikov V.V. Qualitative assessment of the possible influence of a weak pulsed field on the microstructure of bioplastics. *Fundamental Problems of Radioelectronic Instrumentation*, 2013, vol. 13, no. 2, pp. 186-188 (In Russ.)]
8. Рыжаков В.В. Исследование влияния магнитных полей на кристаллизацию вязких сахаросодержащих сред. *Оборонный комплекс – научно-техническому прогрессу России*, 2011, № 1. с. 56-61. [Ryzhakov V.V. Investigation of the influence of magnetic fields on the crystallization of viscous sugar-containing media. *The defense complex - to the scientific and technological progress of Russia*, 2011, no. 1. pp. 56-61 (In Russ.)]
9. Глушченков В.А., Карпукхин В.Ф. *Технология магнитно-импульсной обработки материалов*. Самара: Изд-во Федоров, 2014, 208 с. [Glushchenkov V.A., Karpukhin V.F. *Technology of magnetic pulse processing of materials*. Samara: Fedorov Publishing House, 2014, 208 p. (In Russ.)]
10. Глушченков В.А. *Энергетические установки для магнитно-импульсной обработки материалов*. Самара. Изд-во Федоров, 2013, 123 с. [Glushchenkov V.A. *Power plants for magnetic pulse processing of materials*. Samara Fedorov Publishing House, 2013, 123 p. (In Russ.)]
11. Кленова Н. А. *Лабораторный практикум по микробиологии: учебное пособие*. Самара: Самарский университет, 2012, 102 с. [Klenova N. A. *Laboratory workshop in microbiology: textbook*. Samara: Samara University, 2012, 102 p. (In Russ.)]

12. Соболева Е.Н. Тромбоэластография как метод интегральной оценки системы гемостаза. *Первые шаги в науку*, 2011, № 1, с. 91-94. [Soboleva E.N. Thromboelastography as a method of integrated assessment of the hemostatic system. *First Steps in Science*, 2011, no. 1, pp. 91-94 (In Russ.)]

13. Фархутдинов Р.Р., Тевдорадзе С.И. Методики исследования хемилуминесценции биологического материала на хемилуминомере ХЛ – 003. *Сборник докладов. Москва. Россия. 14-15 сентября 2004*. М.: Изд-во РУДН, 2005, с. 147-154 с. [Farkhutdinov R.P., Tevdoradze S.I. Methods for the study of the chemiluminescence of biological material on the chemiluminometer HL – 003. *Collection of reports. Moscow. Russia. September 14-15, 2004*. M.: Publishing House of RUDN, 2005, pp. 147-154 (In Russ.)]

14. Брагина И.В., Попова А.Ю. Оценка токсичности и опасности химических веществ их смесей для здоровья человека. М.: Роспотребнадзор, 2014, 638 с. [Bragina I.V., Popova A.Yu. *Assessment of toxicity and hazard of chemicals of their mixtures for human health*. M.: Rosпотребнадзор, 2014, 638 p. (In Russ.)]

POSSIBILITY OF APPLICATION OF MEDICINES AFTER THE IRRADIATION OF THE PULSE MAGNETIC FIELD OF HIGH STRENGTH

Rodenko N.A., Vasilyeva T.I., Belyaeva I.A.

Samara University

st. Moscow highway, 34, Samara, 443086, Russia; e-mail: t.rodenko@mail.ru

Abstract. This paper discusses the change in the antibacterial activity of benzylpenicillin sodium salt after the exposure of a pulsed magnetic field (IMP) of high intensity. An increase in the antibacterial effect of benzylpenicillin irradiated by a pulsed magnetic field at certain values of intensity, frequency and number of pulses were found. The impact of a pulsed magnetic field was carried out both on powdered benzylpenicillin sodium salt, and on the antibiotic, which is in solution. In addition, the effect of the storage time of irradiated powdered benzylpenicillin on the change in the diameters of growth suppression zones was studied. The object of the study was the bacteria *Escherichia coli*. Evaluation of the antibacterial effect was assessed by an increase in the lysis zones of *E. coli* compared with the control (not irradiated) material. Studies have been conducted to study the anti-aggregation activity of pentoxifylline irradiated with IMP. An increase in antiaggregation activity was recorded. The hypothesis of an increase in the antibacterial and antiaggregational activity of drugs under the influence of IMP, associated with a change in the conformation of molecules, has been put forward. The research has been conducted to study the safety of exposure of benzylpenicillin to sodium salt and pentoxifylline IMP. The effect of the pulsed electromagnetic field on the antioxidant activity of drugs was studied. The acute toxicity was studied when intraperitoneal administration of benzylpenicillin sodium salt and pentoxifylline to mice before and after treatment with a pulsed electromagnetic field with the calculation and comparison of LD₅₀ indices.

Key words: benzylpenicillin sodium salt, pentoxifylline, antibacterial activity, pulsed magnetic field, agar diffusion method.