УДК 615.451.13

СПЕЦИФИКА ИЗМЕНЕНИЙ ВОДНОГО КОМПОНЕНТА РАСТВОРОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГИПОТЕНЗИВНЫХ ГЛАЗНЫХ СРЕДСТВ РАЗЛИЧНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ

Алексеев А. В., Волкова Л. Р., Зубарева Г. М.

ГБОУ ВПО Тверская государственная медицинская академия Минздрава России, Тверь, Россия (170100, Тверь, ул. Советская,4).

В литературе имеются многочисленные публикации о влиянии различных препаратов на биологические системы. К веществам, используемым для лечения заболеваний глаз, относят пилокарпина гидрохлорид, бетаксолола гидрохлорид и эпинефрин, механизм действия которых сводится к снижению внутриглазного давления, однако отсутствуют данные об их действии в сверхмалых дозах. При этом в печати существует информация, которая объясняет механизм действия лекарственных препаратов, опосредовано через их влияние на водный компонент биологических жидкостей [1,6,7]. Цель настоящей работы: выявить особенности влияния гипотензивных глазных средств различной химической структуры на водный компонент модельных растворов. В качестве исследуемых жидкостей использовали дважды перегнанную деионизованную воду, растворы пилокарпина, бетаксолола и эпинефрина в исходной концентрациии 1 %. Анализируемые образцы готовили непосредственно перед снятием спектра в кварцевой посуде, быстрым последовательным десятикратным разбавлением исходных растворов от 10^1 до 10^{16} раз и проводили ИК-спектроскопию с регистрацией спектров пропускания в области 3500–963 $см^{-1}$. Установлено, что в зависимости от природы и количества, исследуемые вещества вызывают специфические изменения водного компонента их растворов.

Ключевые слова: модельные растворы, гипотензивные глазные средства, малые концентрации, ИК-спектрометрия.

SPECIFIC CHANGES OF THE WATER COMPONENT IN SOLUTIONS UNDER THE ACTION OF HYPOTENSIVE EYE REMEDIES WITH DIFFERENT CHEMICAL STRUCTURE

Alekseev A. V., Volkova L. R., Zubareva G. M.

Tver State Medical Academy, Tver, Russia (170100, Tver, Sovetskaya Street, 4)

There are numerous articles about the action of different preparations on biological systems. The substances used for the treatment of eye diseases are pilocarpine hydrochloride, betaxolol hydrochloride and epinephrine whose mechanism of action is aimed at drop of intraocular pressure; however there are no data regarding their action in very-low-doses. At that in press there is information which explains the mechanism of action of medicinal preparations by means of their effect on the water component of biological fluids. The aim of the article is to reveal the peculiarities of the effect of hypotensive eye remedies with different chemical structure on the water component of test solutions. Deionized redistilled water, solutions of pilocarpine, betaxolol and epinephrine in the initial concentration of 1% were used as test fluids. The samples under study were prepared in fused silica flasks immediately prior to spectrum taking by means of tenfold serial dilution of the initial solutions from 101 to 1016 times. After that infrared spectrometry with transmittance spectra registration in the range of 3500-963 cm^{-1} was performed. It was estimated that the substances under study caused specific changes in the water component depending on their nature and amount.

Keywords: test solutions, hypotensive eye remedies, low concentrations, infrared spectrometry.

Введение

Повышенное внутриглазное давление (ВДГ) – основное звено в развитии глаукоматозной атрофии зрительного нерва. Уровень ВДГ определяется циркуляцией в глазу водянистой влаги. Все гипотензивные средства можно разделить на две основные группы: уменьшающие продукцию водянистой влаги и улучшающие ее отток. Действие препаратов направленно на периферические отделы автономной нервной системы, представленные М-

холинергическими и адренергическими рецепторами. Холинергическая стимуляция приводит к сокращению сфинктера зрачка и цилиарной мышцы, улучшению оттока влаги и снижению ВДГ, именно таким препаратом является пилокарпин. Среди лекарственных средств, подавляющих продукцию водянистой влаги, выделяют селективные и неселективные β-адреноблокаторы, наибольшее распространение среди них имеет бетаксолол (бетоптик). Особое место среди глазных гипотензивных средств занимает эпинефрин, который кратковременно снижает продукцию водянистой влаги и улучшает ее отток. Механизм действия эпинефрина на отток влаги до конца не выяснен. Полагают, что стимуляция β-адренрецепторов усиливает синтез цАМФ, увеличивающий отток жидкости. Эпинефрин также активирует лизосомальную гиалуронидазу, тем самым влияет на метаболизм гликозамингликанов в трабекулярной диафрагме. Следует отметить, что фармакологическое действие лекарственных средств напрямую связано с химическим строением. Однако в последнее время в литературе появились публикации, которые объясняют механизм действия лекарственных препаратов, опосредовано через их влияние на водный компонент биологических жидкостей [1,6,7].

Цель работы

Выявить особенности влияния гипотензивных глазных средств различной химической структуры на водный компонент модельных растворов.

Материалы и методы

При проведении исследований использовался аппаратно-программный комплекс, работающий в ИК-диапазоне. Коэффициенты пропускания регистрировали в следующих диапазонах длин волн: 3500-3200 см$^{-1}$ (1 канал), 3085-2832 см$^{-1}$ (2 канал), 2120-1880 см$^{-1}$ (3 канал), 1710-1610 см$^{-1}$ (4 канал), 1600-1535 см$^{-1}$ (5 канал), 1543-1425 см$^{-1}$ (6 канал), 1430-1210 см$^{-1}$ (7 канал), 1127-1057 см$^{-1}$ (8 канал), 1067-963 см$^{-1}$ (9 канал).

1 канал – 3500-3200 см$^{-1}$. В данном спектральном диапазоне имеются валентные колебания групп О-Н, установлено наличие широкой полосы поглощения, обусловленной валентными колебаниями N-H, в образовании которой принимают участие пептидные связи белков и амидные группы сфингомиелина. В указанной частотной области проявляются также валентные колебания =СН-конденсированных карбоциклов, имеющих двойные связи (холестерин и его эфиры). (С-Н, валентные; О-Н, валентные, ассоциированная группа ОН (водородные связи); NH, валентные (свободная NH); NH, валентные (связанная NH); NH, валентные (свободная NH).)

2-канал – 3085-2832 см$^{-1}$. В данной области регистрируется полоса поглощения, связанная с валентными колебаниями С-Н метиленовых и метальных групп присутствующих во всех основных органических компонентах тканей. (СН, валентные.)

3-канал – 2120-1880 см$^{-1}$. У воды в данной области имеется составная деформационно-вибрационная полоса. Здесь нет интенсивных характеристических полос поглощения, присущих основным органическим компонентам тканей.

4-канал – 1710-1610 см$^{-1}$. Этот диапазон отражает деформационные колебания угла связи H-O-H. В данной области присутствует полоса поглощения, образуемая валентными колебаниями C=O связи сложноэфирных групп фосфолипидов, триглицеридов, эфиров холестерина, и полоса амид 1, связанна с валентными колебаниями C=O в амидной группе. (C–C, валентные несопряженные; C=C, валентные сопряженные с бензольным кольцом; C-O, валентные.)

5-канал – 1600-1535 см$^{-1}$. В данном канале четко прописывается полоса амид 2, связанная с деформационными колебаниями N-H в амидной группе. (iC-C, скелетные; NH, деформационные.) Для воды имеется полоса, соответствующая межмолекулярным деформационным колебаниям.

6-канал – 1543-1425 см$^{-1}$. В этой области имеется полоса, образуемая деформационными колебаниями C-H в метиленовых и метальных группах. (CH, деформационные.)

7-канал – 1430-1210 см$^{-1}$. В этой области спектра присутствует полоса поглощения, связанная с симметричными колебаниями связи C=O ионизированных карбоксильных групп. (CH, деформационные; CH, плоскостные деформационные; C-O, валентные; P=O, валентные; S=O, валентные колебании.)

8-канал – 1127-1057 см$^{-1}$. В этом диапазоне выявляются полосы поглощения P-OC и C-O-C связей фосфолипидов. (C-O, валентные; P=O, валентные.)

9-канал – 1067-930 см$^{-1}$. В данном диапазоне для воды имеется полоса, соответствующая межмолекулярным вибрационным колебаниям. В данном диапазоне присутствуют полосы поглощения P-O-C и 3-OH связей фосфатидов и РНК. (CH, внеплоскостные деформационные; C-O, валентные; S-O, валентные.)

Устройство спектрометра позволяло повторять измерения в каждой области через 0,1с. Измерение осуществляли в кюветах из хлористо-бромистого талия и йодисто-бромистого талия (KRS) толщиной 15 мк, что позволяет контролировать показатели пропускания и их колебания, выраженные дисперсией. В качестве исследуемых жидкостей использовали дважды перегнанную деионизованную воду, растворы пилокарпина, бетаксолола и эпинефрина с исходной концентрацией 1 %. Анализируемые образцы готовили непосредственно перед снятием спектра в кварцевой посуде, быстрым последовательным десятикратным разбавлением исходных растворов от 10^1 до 10^{16} раз. В процессе анализа в кювету аппаратной части системы помещали 20 мкл полученного раствора и проводили многократные измерения коэффициентов пропускания в течение 30 с

[3,4]. За один цикл осуществляли около 300 измерений коэффициентов пропускания в каждом из девяти диапазонов и рассчитывали значения дисперсий, характеризующих флуктуацию инфракрасного спектра. В процессе исследования с помощью спектрометра регистрировали значения показателей пропускания для эталона (бидистиллированная вода), затем для исследуемого раствора Полученные результаты обрабатывались методом линейного дискриминантного анализа в вычислительной среде интегрированной системы расчетов MATLAB (лицензия №1462295). Предварительно было отмечено, что в каждом интервале длин волн наблюдалось нормальное распределение величин флуктуаций. Это дало возможность с помощью критерия Махаланобиса [4], учитывающего корреляционные связи между коэффициентами пропускания и их дисперсиями [2], количественно охарактеризовать состояния водных систем в присутствии сверхмалых количеств исследуемых веществ по сравнению с эталоном (бидистиллированная вода). В результате по величине отношений критерия "эталон-раствор" определяется близость (принадлежность) спектральной характеристики раствора к эталону.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что сверхмалые количества вещества, практически не определяющихся большинством существующих методов анализа, обладают в условиях эксперимента свойством, проявляющимся в резком изменении состояния водной основы раствора [1,6,7], это выражается в величинах критерия Махаланобиса. Как свидетельствуют результаты анализа, что при разведении бетаксолола наблюдается полимодальная зависимость данного критерия от концентрации вещества в растворе. На графике можно отметить максимальные (разведение 10^3, 10^8, 10^{14}) и минимальные (10^2, 10^9, 10^{10}) значения этого показателя, амплитуда колебания составляет 680 у. ед. Возможно, это связано с участием этого вещества в изменении структурного состояния воды и формирования кластеров больших размеров [5]. При исследовании растворов пилокарпина наблюдаются волнообразные изменения анализируемой величины. Обнаружено, что разведение растворов пилокарпина в 10^4, 10^7, 10^{14} способствуют образованию водных систем, характеризующихся низкими значениями критерия Махаланобиса. Амплитуда колебания не превышает 90 у. ед. по сравнению с другими исследуемыми веществами. В модельных растворах эпинефрина не выявлено влияние этого вещества на структурное состояние водного компонента, что, по-видимому, связано с биогенным происхождением данного биологически активного вещества.

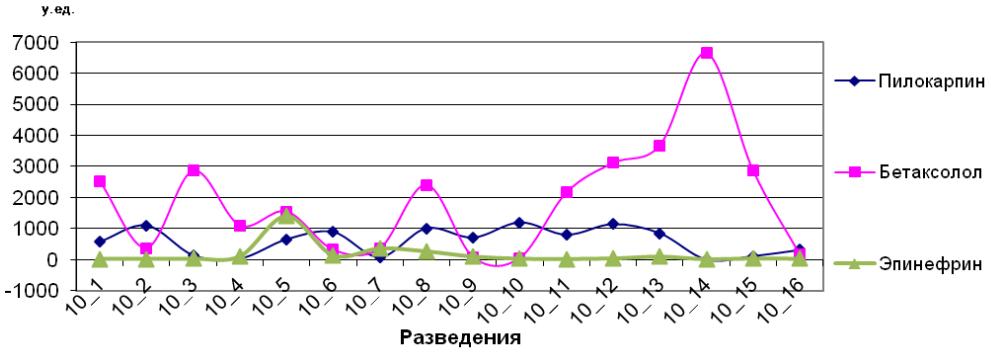

Рис.1. Изменения расстояния Махаланобиса водных систем при разведении раствора бетаксолола, пилокарпина и эпинефрина (примечание: ось абсцисс – разведение, ось ординат – расстояние Махаланобиса)

Выводы

Таким образом, анализ ИК-спектров гипотензивных лекарственных средств с помощью критерия Махаланобиса позволяет предположить, что эффект действия в сверхмалых дозах обусловлен влиянием этих веществ на структуру надмолекулярных ассамблей воды, которые влекут за собой волну перестроек макромолекул, при этом любое воздействие на воду является, скорее всего, прямым путем воздействия на существующую в нем систему восприятия и передачи информации.

Список литературы

1. Бурлакова Е. Б., Конрадов А. А., Мальцева Е. Л. Действие сверхмалых доз биологически активных веществ и низкоинтенсивных физических факторов // Биофизика. 2004. Т.49. Вып. 3. С.551-564

2. Каргаполов А. В., Зубарева Г. М. Способ исследования чистоты воды. Патент Р. Ф. № 2164685 Б.И. 2001. № 9. С.221.

3. Каргаполов А. В., Плигин А. М., Зубарева Г. М., Шматов Г. П. Способ исследования биологических жидкостей и устройство для его осуществления. Патент Р.Ф. № 2137126 Б.И. 1999. № 25. С. 510.

4. Симчера В. М. Методы многомерного анализа статистических данных. М.: Финансы и статистика, 2008. С.400.

5. Фесенко Е. Е., Терпугов Е. Л. О необычных свойствах воды в тонком слое // Биофизика.1999. Т.44. Вып. 1. С.5-9.

6. Ягужинский Л. С., Зубарева Г. М., Каргаполов А. В. Некоторые механизмы действия аскорбиновой кислоты на процессы трансформации структур воды // Доклады Академии наук. 2003. Т.388. № 4. С. 549-551.

7. Ямскова В. П., Ямсков И. А. Механизм биологического действия физико-химических факторов в сверхмалых дозах // Российский химический журнал (ЖРХО им. Д. И. Менделеева). 1999. Т. 43, № 2. С.74-79.

Рецензенты:

Марасанов С.Б., д.м.н., профессор, заведующая кафедрой фармакологии и клинической фармакологии ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздрава России, г.Тверь.

Слюсарь Н.Н., д.м.н., профессор, профессор кафедры химии и биохимии ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздрава России, г.Тверь.

Николаев А.А., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей и биоорганической химии Астраханской государственной медицинской академии, г.Астрахань.