
ВЛИЯНИЕ ИЗОТОПНОГО СОСТАВА ВОДЫ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ И ВСПОМОГАТЕЛЬНОЙ СУБСТАНЦИЙ

Сообщение 2

**О.В. Титорович, Т.В. Плетенева, Е.В. Успенская,
Т.В. Максимова, М.С. Лукашова**

Кафедра фармацевтической и токсикологической химии

Н.А. Ходорович

Кафедра общей патологии и патологической физиологии

Медицинский факультет

Российский университет дружбы народов

ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198

А.В. Сыроешкин

Институт прикладной геофизики

ул. Ростокинская, 9, Москва, Россия, 129128

Т.Н. Бурдейная

ЗАО «Легкая вода»

ул. Малая Юшуньская, 1-2, Москва, Россия, 117303

Физико-химический и биофармацевтический анализ фармацевтических и вспомогательных субстанций свидетельствует о возможном их взаимном влиянии в жидких средах организма [1]. Ранее нами было показано, что вода, обедненная по дейтерию, снижает токсическое действие динатриевой соли этилендиаминацетата ($\text{Na}_2\text{ЭДТА}$) [2], который используют как самостоятельное лекарственное средство и в качестве вспомогательного вещества — стабилизатора в жидких лекарственных формах, мазях, таблетках, суппозиториях, а также в косметологии и пищевой промышленности (консервант E386). Эссенциальный микроэлемент Zn(II) — кофактор многочисленных ферментативных систем и компонент лекарственных и витаминных препаратов. В работе исследовано влияние изотопного состава воды на индивидуальную и комбинированную биологическую активность $\text{Na}_2\text{ЭДТА}$ и ZnSO_4 (модель Spirotox).

Ключевые слова: ЭДТА, сульфат цинка, обедненная по дейтерию вода, Spirotox.

Вода, отвечающая фармакопейным требованиям, как и природная питьевая вода, характеризуется определенным изотопным составом: соотношение D/H по международному стандарту SMOW (Standard Mean Ocean Water) составляет $\text{D/H} = 155 \cdot 10^{-6}$ или 155 ppm [3].

Обедненная по дейтерию вода (deuterium-depleted water — ddw, «легкая» вода) проявляет неожиданные свойства при воздействии на биологические объекты [4]. Например, использование ее в качестве адьювантного средства способствует повышению эффективности комплексной терапии рака молочной железы, простаты, легких [5—7]. Вода, обедненная по дейтерию, увеличивает скорость фотосинтеза, способствует росту растений и водных животных [8]. Представляет интерес исследование влияния изотопного состава воды на биологическую активность фарма-

цевтических и вспомогательных субстанций ГЛФ, теоретическим обоснованием которого является установленный факт зависимости структуры и физико-химических характеристик воды от соотношения дейтерий/протий [9].

В лекарственных препаратах одновременно присутствуют фармацевтическая и вспомогательная субстанции [10]. Эти субстанции могут поступать в организм и при комбинированной терапии различными препаратами. Например, в последние годы, несмотря на значительную токсичность $\text{Na}_2\text{ЭДТА}$ [11], выявленную при длительном использовании его в качестве антидотного средства при отравлениях тяжелыми металлами, проведены рандомизированные исследования внутривенного введения больным, перенесшим инфаркт миокарда, с целью снижения неблагоприятных сердечно-сосудистых осложнений [12; 13]. Терапия сопровождается пероральным приемом мультивитаминных смесей, включающих и соль цинка. В то же время механизмы комбинированной биологической активности этих субстанций детально не исследованы.

В связи с применением в терапевтических целях воды, обедненной по дейтерию, особый интерес представляют исследования влияния ее на сочетанное воздействие ксенобиотиков, в том числе химиотерапевтических и витаминных средств. Для экспресс-оценки действия таких субстанций оптимальным биообъектом являются одноклеточные простейшие, обеспечивающие получение детальной информации при относительно небольших материальных затратах [4; 14].

Цель настоящей работы — изучить влияние изотопного состава воды на комбинированную биологическую активность $\text{Na}_2\text{ЭДТА}$ (динатрия эдетат, Трилон Б) и эссенциального микроэлемента Zn^{2+} методом биотестирования.

Материалы и методы. В работе были использованы реактивы: вода с пониженным содержанием дейтерия $\text{D/H} = 4\text{ppm}$ (ЗАО «Легкая вода», Москва); деионизированная вода — бидистиллят (BD) (18 МОм/см; система Milli-Q, «Millipore»); динатриевая соль этилендиамина тетрауксусной кислоты марки ХЧ («Уралхиминвест», Уфа) и растворы динатрия эдетата (трилона Б), приготовленные на бидистиллированной воде и обедненной по дейтерию воде с концентрациями от 1 до 6 ммоль/л. Субстанция Zinc sulfate heptahydrate ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) производства Sigma-Aldrich: Fluka и растворы цинка сульфата, приготовленные на воде с разным соотношением D/H с концентрациями от 0,1 до 1 ммоль/л. Растворы, содержащие обе субстанции, готовили в объемных соотношениях 1 : 3, 1 : 1 и 3 : 1 из исходных растворов с концентрациями: $\text{C}(\text{ZnSO}_4) = 0,5$ ммоль/л, $\text{C}(\text{Na}_2\text{ЭДТА}) = 3$ ммоль/л. Наблюдение за поведением простейших *Spirostomum ambiguum* (Spirotox test) вели с помощью бинокуляра (MBS-10) при температуре 28 °С (термостат LAUDA ALPHA A6). Тест-объекты инкубировали в мультитуночный планшет, заполненный испытуемым образцом.

Результаты и их обсуждение. Исследования растворов трилона Б и сульфата цинка, приготовленных на воде с разным соотношением D/H методом биотестирования показали, что продолжительность жизни инфузорий с ростом концентрации растворов снижается экспоненциально (рис. 1).

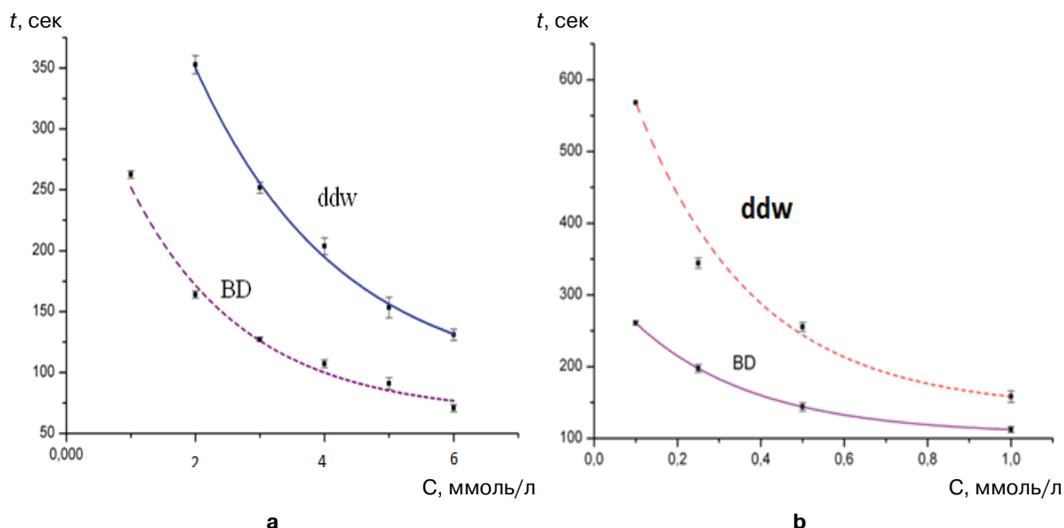


Рис. 1. Кривые «концентрация-время жизни» для *Spirostomum ambiguum* в растворах Na₂ЭДТА (а) и ZnSO₄ (b) с соотношением D/H 4ppm (ddw) и 140 ppm (BD); n = 5, p = 0,95

Как видно, вода, обедненная по дейтерию, проявляет антидотное действие: продолжительность жизни тест-культуры в растворах обеих субстанций выше, чем в бидистиллированной воде.

По тангенсу угла наклона прямой в координатах $y = t$ (сек), $x = \ln C$ рассчитывали постоянную, показывающую изменение времени жизни инфузории при изменении концентрации субстанции:

$$k = \frac{dt}{d \ln C}.$$

При изменении логарифмов концентрации на единицу

$$\ln C_2 - \ln C_1 = \ln C_2/C_1 = 1$$

концентрация возрастала в 2,3 раза. В «легкой» воде тангенс угла наклона прямых в несколько раз превышает значения, полученные в бидистиллированной воде (табл. 1). Таким образом, хотя «легкая» вода приводит к снижению токсичности субстанций, инфузории, помещенные в растворы субстанций в DDW, оказываются более чувствительными к действию ксенобиотиков.

Таблица 1

Чувствительность тест-объекта к изменению концентрации Na₂ЭДТА и ZnSO₄ в водах с разным содержанием дейтерия

Субстанция	dt/d(lnC)	
	140 ppm (BD)	4 ppm (ddw)
Na ₂ ЭДТА	103,4	202,7
ZnSO ₄	66,3	178,5

При изучении комбинированного воздействия субстанций в водах с различным соотношением дейтерий/протий смешивали растворы с близкими токсическими концентрациями: 0,5 ммоль/л раствор ZnSO₄ и 3 ммоль/л раствор Na₂ЭДТА (рис. 2).

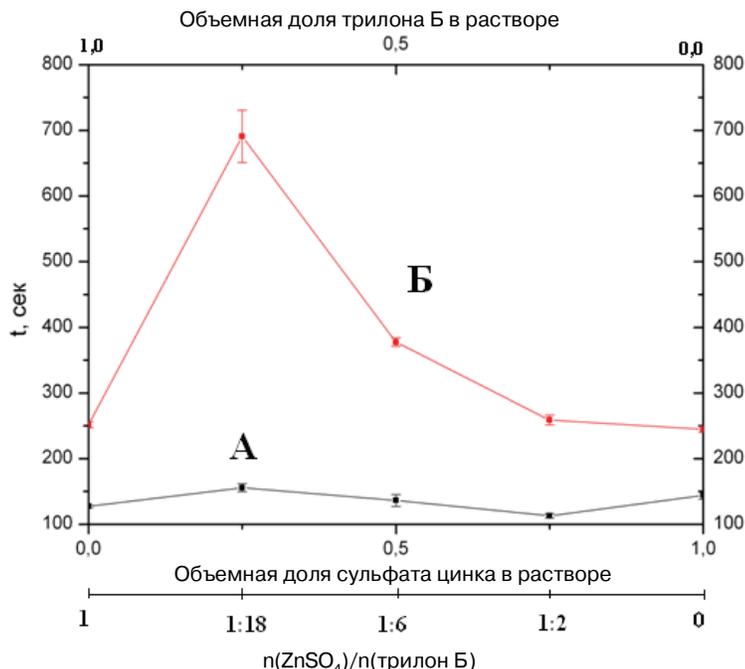


Рис. 2. Биологическая активность $\text{Na}_2\text{ЭДТА}$ и ZnSO_4 при различных мольных соотношениях в водах с разным содержанием дейтерия: А — 140 ppm(BD); Б — D/H 4 ppm (ddw)

Из полученных результатов следует, что в бидистиллированной воде инфузории практически не реагируют на изменение мольного соотношения ксенобиотиков. Но в «легкой» воде обнаружено резкое снижение токсичности комплексообразователя при объемной доле раствора сульфата цинка 0,25 — время жизни возрастает примерно в 4 раза. Наблюдаемый экстремум свидетельствует о том, что исследуемые субстанции снижают токсичность друг друга. Механизмы взаимного влияния ксенобиотиков нельзя объяснить только химическим взаимодействием, так как экстремальная точка не соответствует молярному соотношению 1 : 1, отвечающему формированию хелатного комплекса цинка.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о влиянии содержания дейтерия в воде на биологическую активность ZnSO_4 и $\text{Na}_2\text{ЭДТА}$. Выявленное молярное соотношение иона эссенциального микроэлемента и хелатной субстанции 1:18 может быть использовано для снижения неблагоприятных осложнений при уточнении доз инфузионного кардиологического препарата [12; 13] и при использовании ЭДТА в качестве вспомогательного вещества в готовых лекарственных формах [10].

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Тенцова А.И., Терёшкина О.И., Рудакова И.П. и др. Современные биофармацевтические аспекты вспомогательных веществ // Фармация. 2012. № 7. С. 3—6.
- [2] Бурдейная Т.Н., Зрелов О.Ю., Максимова Т.В. и др. Комбинированная токсичность $\text{Na}_2\text{ЭДТА}$ и D_2O // Вестник РУДН. Серия Медицина. 2013. № 2. С. 5—10.
- [3] Lis G., Wassenaar L.I., Hendry M.J. High-Precision Laser Spectroscopy D/H and $18\text{O}/16\text{O}$ Measurements of Microliter Natural Water Samples // Anal. Chem. 2008. V. 80. № 1. P. 287—293.

- [4] *Tsisanova E.S., Uspenskaya E.V., Pleteneva T.V., Syroeshkin A.V.* Study of biological activity and D/H ratio of water with the aid of cellular biosensor *Spirostomum ambiguum* // Trace elements in medicine. 2010. Т. 11. Вып. 2. С. 83.
- [5] *Krempels K., Somlyai I., Somlyai G.* A Retrospective Evaluation of the Effects of Deuterium Depleted Water Consumption on 4 Patients with Brain Metastases from Lung Cancer // *Integrative Cancer Therapies* 2008; 7: 3: 172—181.
- [6] *Krempels K., Somlyai I., Gyöngyi Z., Ember I., Balog K., Abonyi O., Somlyai G.A.* Retrospective study of survival in breast cancer patients undergoing deuterium depletion in addition to conventional therapies // *J Cancer Res Ther* 2013; 1; 8: 194—200.
- [7] *Kovocs A., Guller I., Krempels K., Somlyai I., Jonosi I., Gyongyi Z., Szaby I., Ember I., Somlyai G.* Deuterium Depletion May Delay the Progression of Prostate Cancer // *J. Cancer Therapy* 2011; 2: 548—556.
- [8] *Seki K., Usui T.* Process for promoting growth of agricultural products and aquatic animals, and for treating pancreatic disease, involves using deuterium-depleted water having specific deuterium concentration // Patent JP2005328812-A. 2005.
- [9] *Гончарук В.В., Латишин В.Б., Бурдейная Т.Н., Сыроешкин А.В. и др.* Физико-химические свойства и биологическая активность воды, обедненной по тяжелым изотопам // *Химия и технология воды*. 2011. Т. 33. № 1. С. 15—25.
- [10] Капли Береш Плюс® (Beres Drops Plus®). URL: http://www.rlsnet.ru/tn_index_id_528.htm.
- [11] ChemIDplus: Edetate sodium. URL: <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/139-33-3>.
- [12] *Lamas G.A., Goertz C., Boineau R. et al.* Effect of Disodium EDTA Chelation Regimen on Cardiovascular Events in Patients with Previous Myocardial Infarction. The TACT Randomized Trial // *JAMA*. 2013. V. 309. N. 12. P. 1241—1250.
- [13] *Lamas G.A., Boineau R., Goertz Ch. et al.* EDTA chelation therapy alone and in combination with oral high-dose multivitamins and minerals for coronary disease: The factorial group results of the Trial to Assess Chelation Therapy // *American Heart Journal*. 2014. V. 168. N 1. P. 37—44.
- [14] *Nalecz-Jawecki G.* Spirotox-Spirostomum ambiguum acute toxicity test — 10 years of experience // *Environ Toxicol*. 2004 Aug;19(4):359—64.

INFLUENCE ISOTOPIC COMPOSITION OF WATER ON COMBINED BIOLOGICAL ACTIVITY ADJUVANTS NA,EDTA AND ESSENTIAL TRACE ELEMENTS

Message 2

**O.V. Titorovich¹, T.V. Pleteneva¹, E.V. Uspenskaya¹,
T.V. Maksimova¹, N.A. Khodorovich², M.S. Lukashova¹,
A.V. Syroeshkin³, T.N. Burdeinaya⁴**

¹Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry

²Department of General Pathology and Pathophysiology
Peoples' Friendship University of Russia
Miklukho-Maklaya str., 8, Moscow, Russia, 117198

³Institute of Applied Geophysics
Rostokinskaya str., 9, Moscow, Russia, 129128

⁴ZAO "Legkaya voda"
Malaya Yushunskaya str., 1/2, Moscow, Russia, 117303

Physico-chemical and biopharmaceutical analysis excipients and drug indicates the absence of the previously announced their inertia. Excipients can exhibit biological activity by themselves, and influence the activity of the active compound. Previously, we have shown that the water depleted in deute-

rium reduces the toxic effect of disodium ethylenediaminetetraacetate (Na_2EDTA). Disodium edetate is used as a stabilizer in liquid dosage forms including ointments, suppositories and tablets, is known as E386 preservative in the food industry. Zinc is as essential trace elements involved in many vital processes and is a part of the multi-component drugs. We have studied the combined toxicity of adjuvant Na_2EDTA and zinc salts in solutions with different ratios of isotopes of hydrogen (D/H) on biological models Spirotox.

Key words: excipients, biological activity, deuterium depleted water, Spirotox.

REFERENCES

- [1] Tentsova A.I., Teryoshkina O.I., Rudakova I.P. et al. Modern biopharmaceutical aspects of excipients. *Pharmacy*, 2012, no. 7, pp. 3—6. (In Russian).
- [2] Burdeynya T.N., Zrellov O.Yu., Maximova T.V. et al. The combined toxicity of Na_2EDTA and D_2O . *Bulletin PFUR. Series Medicine*, 2013, no. 2, pp. 5—10. (In Russian).
- [3] Lis G., Wassenaar L.I., Hendry M.J. High-Precision Laser Spectroscopy D/H and $18\text{O}/16\text{O}$ Measurements of Microliter Natural Water Samples. *Anal. Chem.*, 2008, vol. 80, no. 1, pp. 287—293.
- [4] Tsisanova E.S., Uspenskaya E.V., Pleteneva T.V., Syroeshkin A.V. Study of biological activity and D/H ratio of water with the aid of cellular biosensor *Spirostomum ambiguum*. *Trace elements in medicine*, 2010, vol. 11, issue 2, pp. 83.
- [5] Krempels K., Somlyai I., Somlyai G. A Retrospective Evaluation of the Effects of Deuterium Depleted Water Consumption on 4 Patients with Brain Metastases from Lung Cancer. *Integrative Cancer Therapies* 2008; 7: 3: 172—181.
- [6] Krempels K., Somlyai I., Gyöngyi Z., Ember I., Balog K., Abonyi O., Somlyai G.A. Retrospective study of survival in breast cancer patients undergoing deuterium depletion in addition to conventional therapies. *J Cancer Res Ther* 2013; 1; 8: 194—200.
- [7] Kovocs A., Guller I., Krempels K., Somlyai I., Jonosi I., Gyongyi Z., Szabu I., Ember I., Somlyai G. Deuterium Depletion May Delay the Progression of Prostate Cancer. *J. Cancer Therapy* 2011; 2: 548—556.
- [8] Seki K., Usui T. Process for promoting growth of agricultural products and aquatic animals, and for treating pancreatic disease, involves using deuterium-depleted water having specific deuterium concentration. *Patent RU JP2005328812-A*, 2005.
- [9] Goncharuk V.V., Lapshin V.B., Burdeynaya T.N. et al. Physico-chemical properties and biological activity of the water depleted on heavy isotopes. *Chemistry and technology of water*, 2011, vol. 33, no. 1, pp. 15—25. (In Russian).
- [10] Drops Beresh Plus® (Beres Drops Plus®). Available at: http://www.rlsnet.ru/tn_index_id_528.htm
- [11] ChemIDplus: Edetate sodium. Available at: <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/139-33-3>.
- [12] Lamas G.A., Goertz C., Boineau R. et al. Effect of Disodium EDTA Chelation Regimen on Cardiovascular Events in Patients With Previous Myocardial Infarction. The TACT Randomized Trial. *JAMA*, 2013, vol. 309, no. 12, pp. 1241—1250.
- [13] Lamas G.A., Boineau R., Goertz Ch. et al. EDTA chelation therapy alone and in combination with oral high-dose multivitamins and minerals for coronary disease: The factorial group results of the Trial to Assess Chelation Therapy. *American Heart Journal*, 2014, vol. 168, no. 1, pp. 37—44
- [14] Nachez-Jawecki G. Spirotox-Spirostomum ambiguum acute toxicity test — 10 years of experience. *Environ Toxicol.*, 2004 Aug; 19(4):359—64.