ПОЛИТЕХ
Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого

На правах рукописи

РОДЕНКО
Наталья Алексеевна

ВЛИЯНИЕ ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ ВЫСОКОЙ НАПРЯЖЕННОСТИ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА БИОГЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ, ПРОДУЦИРУЕМОГО *PENICILLIUM CHRYSOGENUM* (НА ПРИМЕРЕ БЕНЗИЛПЕНИЦИЛЛИНА НАТРИЕВОЙ СОЛИ)

1.5.2. Биофизика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург
2026

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева».

Научный руководитель:

кандидат биологических наук Васильева Татьяна Ивановна.

Официальные оппоненты:

доктор физико-математических наук, профессор Анисимов Александр Васильевич, ведущий научный сотрудник лаборатории роста растительных клеток Казанского института биохимии и биофизики – структурного подразделения федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», г. Казань;

кандидат химических наук Шипиловских Сергей Александрович, ведущий научный сотрудник лаборатории нано- и микрокапсулирования биологически активных веществ федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», г. Санкт-Петербург.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, г. Пущино

Защита состоится **« 26 » ноября 2026 г.** в 15:00 на заседании диссертационного совета **У.1.5.2.22** федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» (195251, г. Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29) по адресу: г. Санкт-Петербург, ул. Хлопина 11, корп. 1, Высшая школа биомедицинских систем и технологий, ауд. 209.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте https://www.spbstu.ru/science/the-department-of-doctoral-studies/independent-award-academic-degrees/defences-calendar/ ФГАОУ ВО СПбПУ.

Автореферат разослан: « ____ » _____ 2026 г.

Учёный секретарь диссертационного совета,
кандидат физико-математических наук  Забродская Яна Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Исследование влияния различных физических факторов (ионизирующие и неионизирующие излучения, температура, давление и др.) на биологические объекты открывает новые перспективы для повышения их биологической активности. Особое место среди таких факторов занимают магнитные поля, способные вызывать биологические эффекты, которые подробно рассмотрены в работах А. Либова, В.В. Леднева, М.Н. Жадина и В.Н. Бинги, где сформулированы биофизические модели действия комбинированных и низкоинтенсивных магнитных полей [McLeod, 1987; Smith, 1993; Леднев, 1996; Zhadin, 1998; Бинги, 2003]. Наибольший интерес представляют импульсные магнитные поля (ИМП) высокой напряженности, параметры которых на порядки отличаются от используемых в биологии и медицине, а время воздействия (длительность импульса) на объект составляет десятки и сотни микросекунд (τ, мкс) при подаче одного импульса (однократное воздействие n=1) с частотой разрядного тока f в кГц. В диссертационной работе под высокой напряженностью (индукции) магнитного поля понимаются поля при магнитной индукции от B=1 Тл и выше. В литературе преимущественно описаны эффекты низкоинтенсивных магнитных полей (от десятков мкТл до мТл) в герцовом диапазоне частот. В то же время воздействие полей с индукцией до 1 Тл и выше на килогерцовых частотах при субмиллисекундной длительности импульса остается практически не изученным, что определяет новизну настоящей работы. Таким образом, исследование ИМП с субмиллисекундной длительностью импульса при килогерцовых частотах актуально как для понимания взаимодействия магнитного поля с препаратом биогенного происхождения, так и для научного обоснования возможности применения бесконтактной технологии сборки колпачка пенициллинового флакона с помощью магнитно-импульсного воздействия.

Степень разработанности темы исследования. Опубликованные результаты исследований убедительно демонстрируют влияние магнитных полей на биологические, химические реакции и биологическую активность широкого круга соединений, включая вещества биогенной природы [Улащик, 2015; Мирошниченко,1976; Жуков, 1986; Алексеева и др., 2018; Болдырев, 2002; Kakikawa, Maeda et al., 2019; Jalali et al., 2019; Torgomyan, Trchounian, 2015]. Так, в работе [Алексеева и др., 2018] исследовано влияние магнитного поля на спектроскопические характеристики препаратов нимесулид и глюкозамина сульфат. При воздействии магнитных полей на лекарственные препараты могут изменяться их структура, биологическая активность и свойства. Известно влияние магнитного поля на дислокационную структуру молекулярных кристаллов ацетилсалициловой кислоты (аспирин) и п-ацетаминофена (парацетамола), которые широко применяются в качестве жаропонижающих препаратов [Болдырев, 2002]. С помощью метода травления было обнаружено, что магнитное поле смещает дислокации в кристаллах и влияет на морфологию реакционного фронта при их растворении. На основании полученных данных авторами выдвинуто предположение о влиянии магнитного поля на сетку водородных связей в кристаллах посредством воздействия на магнитный момент бензольного кольца и функциональных групп в молекуле лекарственного

вещества. В частности, согласно имеющимся данным, магнитные поля способны модифицировать фармакологические свойства таких противоопухолевых лекарственных веществ, как цисплатин, митомицин С и доксорубицин в отношении клеток гепатомы человека HepG2 (культура опухолевых клеток печени); цисплатин в отношении клеток A2780-CP (культура опухолевых клеток яичников) и антибактериальных препаратов: тетрациклин, канамицин, хлорамфеникол, цефтриаксон в отношении бактерий *Escherichia coli* [Kakikawa, Maeda et al., 2019; Jalali et al., 2019; Torgomyan, Trchounian, 2015].

Обобщая вышесказанное, можно заключить, что магнитные поля способны модифицировать свойства широкого круга лекарственных веществ, однако молекулярные механизмы этого явления остаются до конца не выясненными. Для дальнейшего изучения этих механизмов в качестве модельного объекта в настоящей работе было выбрано биогенное соединение – бензилпенициллин, который продуцируется плесневыми грибами рода *Penicillium chrysogenum.* Он оказывает бактерицидное действие за счет ферментативного ингибирования синтеза клеточной стенки грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов [Tipper, Strominger, 1965]. В современной медицине используются различные модификации природного бензилпенициллина, поскольку в чистом виде он плохо растворим, поэтому его переводят в бензилпенициллина натриевую соль. Данное соединение является биогенным соединением, представляет удобную модель для прослеживания связи между возможными структурными изменениями под действием импульсного электромагнитного поля, растворимостью и биологической активностью соединения.

Кроме того, имеются данные, подтверждающие воздействие магнитного поля на инициацию образования токсичных активных радикалов, в том числе и при действии на биологические объекты [Барышев и др., 2014]. Принимая это во внимание, использование обработанных ИМП препаратов в медицинской практике может вызвать побочные, негативные и неизвестные явления. Может проявляться токсическое действие лекарственного препарата. Как правило, оно распространяется избирательно, действуя на отдельные органы и ткани организма. Однако острая его фаза может спровоцировать запуск необратимых процессов в нескольких системах одновременно.

Одним из практических направлений применения магнитно-импульсного воздействия является его использование в медицинской промышленности для сборки колпачка пенициллинового флакона с препаратом. Данный метод обладает тем преимуществом, что обеспечивает бесконтактное воздействие. Однако магнитное поле свободно проникает через стекло, поэтому при воздействии ИМП с параметрами: $H=(0{,}03\div3{,}44)\cdot10^6$ А/м ↔ B=0,04÷4,32 Тл, E=126÷18652 В/м, f=4÷70 кГц при однократном воздействии с длительностью импульса от 20 до 540 мкс (число импульсов n=1) нельзя исключить изменение биологической активности бензилпенициллина, появление реакционноспособных радикалов и токсических эффектов. Выбранная совокупность параметров отражает реальные технологические режимы магнитно-импульсной сборки, поэтому оценка влияния параметров ИМП на стабильность препарата в стеклянных флаконах является необходимой для потенциального внедрения этой технологии.

Таким образом, несмотря на многочисленные данные о влиянии магнитных полей на

свойства препаратов, открывается также перспективность использования технологии магнитно-импульсной обработки. Однако на сегодняшний день отсутствует достаточная доказательная база о ее безопасности для биогенных соединений. Это обусловливает необходимость комплексного исследования влияния ИМП высокой напряженности на биологическую активность препаратов, а также анализ возникновения возможных нежелательных эффектов, связанных с генерацией свободных радикалов и развитием токсических эффектов, способных повлиять на качество и безопасность препаратов.

Возможным путем решения обсуждаемой проблемы, с одной стороны, может быть исследование токсического действия (безопасности) магнитно-импульсной обработки в качестве сборки колпачка пенициллинового флакона с лекарственным препаратом (бензилпенициллина натриевой солью) на примере оценки возможности образования свободных радикалов и изменения острой токсичности биогенного соединения. Исследование происходящих изменений в молекуле препарата на примере модельного препарата пенициллинового ряда – бензилпенициллина натриевой соли. С другой стороны, изучение влияния ИМП на биологическую активность бета-лактамных антибиотиков (бензилпенициллина натриевой соли, цефтриаксона, амоксициллина) в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.

В связи с вышеизложенным возникает необходимость в оценке биологической активности соединений, которые были подвергнуты магнитно-импульсному воздействию. Если импульсное магнитное поле высокой напряженности будет приводить к повышению биологической активности, полученные результаты помогут открыть путь к поиску новых способов увеличения биологической активности соединений [Богданов и др., 2023]. Применение препаратов после магнитно-импульсного воздействия может позволить снизить их дозировку при лечении пациентов. Большое значение будет иметь результат повышения антибактериальной активности бета-лактамных антибиотиков в ветеринарии при лечении инфекционных заболеваний животных.

Цель исследования: оценка влияния импульсного магнитного поля высокой напряженности на биологическую активность и физико-химические свойства биогенного препарата бензилпенициллина натриевой соли, продуцируемого *Penicillium chrysogenum.*

Задачи работы предусматривали:

1. Оценить влияние импульсного магнитного поля при $H=(0,03\div1,02)\cdot10^6$ А/м ↔ B=0,04÷1,28 Тл, E=126÷4019 В/м, f=40÷70 кГц при количестве импульсов n=1 с длительностью импульса τ=20-136 мкс на антибактериальную активность бензилпенициллина натриевой соли в отношении грамположительных *Micrococcus luteus* и грамотрицательных микроорганизмов *Escherichia coli*.

2. Охарактеризовать физико-химические свойства молекулы биогенного препарата бензилпенициллина натриевой соли после воздействия импульсного магнитного поля методами ЯМР ^{1}Н-спектроскопии и ИК-Фурье спектроскопии (структурная и пространственная организация молекулы), ЭПР-спектроскопии и хемилюминесценции (возможность образования свободных радикалов), высокоэффективной жидкостной хроматографии (растворимость соединения).

3. Исследовать острую токсичность биогенного препарата бензилпенициллина натриевой соли после обработки импульсным магнитным полем на лабораторных животных.

Научная новизна. Впервые показано, что обработка ИМП биогенного соединения бензилпенициллина натриевой соли H=(0,09÷3,44)·10^6 А/м ↔ B=0,11÷4,32 Тл, E=345÷18652 В/м, f=4÷55 кГц, n=1 с длительностью импульса τ=70-540 мкс не сопровождается изменением острой токсичности при введении лабораторным мышам обработанного ИМП антибиотика и не способствует образованию свободных радикалов в препарате, сохраняющихся с течением времени.

Установлено, что ИМП способствует изменению биологической активности бета-лактамных антибиотиков (бензилпенициллина натриевой соли, цефтриаксона) в отношении тест-микроорганизмов, обработка амоксициллина демонстрирует менее выраженные изменения в сторону увеличения антибактериальной активности.

Определены физические параметры воздействия ИМП H=(0,08÷1,02)·10^6 А/м ↔ B=0,10÷1,28 Тл, E=314÷4019 В/м, f=40 кГц, n=1 с длительностью импульса τ=49-136 мкс на бета-лактамные антибиотики, приводящие к изменению их биологической активности.

Исследовано время сохранения эффекта увеличения биологической активности бензилпенициллина натриевой соли после воздействия ИМП: при низких значениях интенсивности магнитного поля H=(0,09÷0,25)·10^6 А/м↔ B=0,11÷0,31 Тл, E=345÷973 В/м, f=40 кГц, n=1 с длительностью импульса τ=70-96 мкс эффект сохраняется до 3 часов, при действии высоких значений интенсивности H=(0,50÷0,82)·10^6 А/м↔ B=0,11÷1,03 Тл, E=345÷3234 В/м, f=40 кГц, n=1 с длительностью импульса τ=112-120 мкс эффект проявляется на протяжении 1 суток. Показано, что спустя 42 часа хранения обработанной ИМП бензилпенициллина натриевой соли зафиксированный эффект повышения антибактериальной активности препарата способствует постепенному ослаблению.

По данным ЯМР ^{1}H-спектроскопии выявлено, что сохраняется каркас бензилпенициллина натриевой соли, показаны изменения величин химических сдвигов сигналов метиленовых протонов (CH_2) и константы их спин-спинового взаимодействия ($^2J_{HH}$) после магнитно-импульсного воздействия при H=(0,64÷1,01)·10^6 А/м ↔ B=0,80÷1,27 Тл, E=3203÷5084 В/м с частотой разрядного тока f=51 кГц, n=1 с длительностью импульса τ=48-72 мкс.

Методом ИК-Фурье спектроскопии зафиксировано, что увеличение интенсивности магнитного поля при воздействии ИМП в диапазоне H=(0,09÷0,82)·10^6А/м ↔ B=0,11÷1,03 Тл, E=345÷3234 В/м, f=40 кГц, n=1 с длительностью импульса τ=70-120 мкс на бензилпенициллина натриевую соль приводит к уменьшению интенсивности полосы при 3320 $см^{-1}$ и разрешению полос при 3355 $см^{-1}$ и 3369 $см^{-1}$, которые относятся к валентным колебаниям связи N-H. Установлено, что обработка ИМП молекулы бензилпенициллина натриевой соли привела к изменениям валентных колебаний связи C=O лактамного цикла (полоса 1672 $см^{-1}$) и связи C=O амидной группы (полоса 1699 $см^{-1}$), при этом изменений в колебаниях связи C=O карбоксильной группы (полоса 1773 $см^{-1}$) не выявлено.

Выявлено, что воздействие ИМП H=(0,09÷0,82)·10^6А/м↔ B=0,11÷1,03 Тл, E=345÷3234 В/м, f=40 кГц, n=1 с длительностью импульса τ=70-120 мкс на бензилпенициллина натриевую соль приводит к увеличению растворимости препарата.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретические положения систематизируют и углубляют понимание воздействия ИМП на биологическую активность, растворимость молекулы на примере биогенного препарата бензилпенициллина натриевой соли.

Полученные результаты по изменению биологической активности бета-лактамных антибиотиков целесообразно учитывать при разработке метода сборки колпачка пенициллинового флакона. Результаты показывают, что применение ИМП для решения технологической задачи не будет способствовать образованию свободных радикалов и изменению острой токсичности соединения, а при обработке ИМП изменение биологической активности препарата через 42 часа будет приводить к постепенному ослаблению эффекта. Полученные данные свидетельствуют о возможном применении ИМП для сборки колпачка пенициллинового флакона. Полученные экспериментальные данные в диссертационной работе расширяют современные представления о влиянии ИМП высокой напряженности на биологическую активность бета-лактамных антибиотиков

Методология и методы исследования. Для оценки биологической активности бета-лактамных антибиотиков после воздействия ИМП применялся метод диффузии в агар с применением бумажных дисков. Исследование структуры молекулы антибиотика после воздействия ИМП осуществлялось методами ЯМР ^{1}Н-спектроскопии и ИК-Фурье спектроскопии. Для оценки безопасности применения антибактериального препарата после воздействия ИМП в диссертационной работе проводилось исследование образования свободных радикалов методами хемилюминесценции и электронного парамагнитного резонанса, исследование острой токсичности препарата на лабораторных мышах. Определение минимального количества растворителя, необходимого для перевода вещества в жидкое состояние, в соответствии с методикой фармакопейной статьи и исследование концентрации соединения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Возможность возникновения теплового эффекта, возникающего от воздействия ИМП высокой напряженности, оценивали с помощью термоэлектрического метода измерения температуры при помощи термопары, а также применялся тепловизионный метод.

Статистическая обработка. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили в программах Microsoft Office Excel – пакет «Анализ данных», в программе jamovi 2.4.14.0, Statistica 10.0, BioStat 5.9. Нормальность распределения данных определяли по критерию Шапиро-Уилка. Рассчитывали стандартное отклонение (s) и дисперсию (s^2). Применяли параметрические методы: при равенстве дисперсий – t-критерий Стьюдента; при неравенстве дисперсий – t-критерий Уэлча. Различия считались значимыми при $p \leq 0,05$ [Фролов, 1997]. В случае, если распределение данных отличалось от нормального, использовали непараметрические методы. Дисперсионный анализ выполняли по критерию Краскела-Уоллиса при уровне

значимости $p \leq 0{,}001$. Величину LD_{50} вычисляли методом пробит-анализа.

Положения, выносимые на защиту:

1. Воздействие импульсным магнитным полем высокой напряженности на препарат биогенного происхождения бензилпенициллина натриевую соль в порошкообразном виде в диапазоне $H=(0{,}08 \div 1{,}02) \cdot 10^6$ А/м ↔ B=0,10÷1,28 Тл, E=314÷4019 В/м с частотой разрядного тока f=40 кГц при количестве импульсов n=1 с длительностью импульса τ=49-136 мкс способствует изменению диаметров зон ингибирования роста бактерий в отношении тест-микроорганизмов. Выраженность изменений диаметров зон ингибирования роста бактерий зависит от подобранных режимов магнитно-импульсного воздействия и от вида тест-микроорганизмов. При этом повышение антибактериального эффекта обработанного препарата биогенного происхождения бензилпенициллина натриевой соли сохраняется в течение 1 суток с постепенным ослаблением эффекта, по сравнению с активностью необработанного препарата.

2. Воздействие импульсным магнитным полем высокой напряженности в диапазоне $H=(0{,}64 \div 1{,}01) \cdot 10^6$ А/м ↔ B=0,80÷1,27 Тл, E=3203÷5084 В/м с частотой разрядного тока f=51 кГц при количестве импульсов n=1 с длительностью импульса τ=48-72 мкс на молекулу препарата биогенного происхождения бензилпенициллина натриевой соли сохраняет каркас бензилпенициллина натриевой соли и всех связей экзоциклических фрагментов.

3. Обработка импульсным магнитным полем высокой напряженности при $H=(0{,}09 \div 3{,}44) \cdot 10^6$ А/м ↔ B=0,11÷4,32 Тл, E=345÷18652 В/м,f=4÷55 кГц при количестве импульсов n=1 с длительностью импульса τ=70-540 мкс препарата биогенного происхождения бензилпенициллина натриевой соли не приводит к образованию свободных радикалов по истечении магнитно-импульсного воздействия.

4. Обработка импульсным магнитным полем высокой напряженности при $H=3{,}44 \cdot 10^6$ А/м ↔ B=4,32 Тл, E=18652 В/м, f=55 кГц при количестве импульсов n=1 с длительностью импульса τ=96 мкс препарата биогенного происхождения бензилпенициллина натриевой соли не приводит к возникновению острой токсичности при внутрибрюшинном введении мышам обработанного препарата.

Личный вклад соискателя. Изложенные в диссертации оригинальные результаты по изменению биологической активности бета-лактамных антибиотиков после магнитно-импульсного воздействия получены непосредственно автором.

Совместно с научным руководителем к.б.н. Т.И. Васильевой и к.т.н. В.А. Глущенковым осуществлялось планирование экспериментальных работ и подготовка публикаций. Постановка задач и обсуждение результатов выполнялись совместно с научным руководителем. Замеры параметров магнитно-импульсного воздействия проводились совместно с научным сотрудником Р.Ю. Юсуповым Эксперименты по оценке острой токсичности и хемилюминесценции – совместно с д.м.н. А.В. Самородовым. Исследование молекулы бензилпенициллина натриевой соли методом ЯМР ^{1}H-спектроскопии выполнялось совместно с к.х.н. А.В. Богдановым, а методом ИК-Фурье спектроскопии – под руководством к.ф.-м.н. В.А. Жуковой

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности результатов работы проведенного исследования обеспечивается корректным использованием общепринятых методов и приборов. Научные положения, выводы диссертационной работы получены экспериментальным путем и обоснованы, степень достоверности данных доказана путем их статистической обработки и анализа. Достоверность результатов подтверждается апробацией через обсуждение на конференциях различного уровня и публикации в рецензируемых журналах и изданиях.

Результаты диссертационного исследования докладывались на конференциях международного, всероссийского и региональных уровней, в том числе на Международной научной конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии (2018 г., 2022 г., 2023 г., Севастополь, 2019 г., Москва); Международной молодежной научной конференции «Королевские чтения» (2019, 2021 г., Самара); VI Съезде Биофизиков России (2019 г., Сочи); Международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (2019 г., Пущино); Самарской областной студенческой научной конференции (2019 г., 2022 г., Самара); VII Международном молодежном научном медицинском форуме «Белые цветы» (2020 г., Казань); Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии» (2020 г., Екатеринбург); Международной научно-исследовательской конференции по достижениям в биологической науке и технологии: BioTech (2021 г.), II Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и перспективы фармацевтической науки и практики» (2022 г., Кемерово); VIII Молодежной школе-конференции по молекулярной биологии и генетическим технологиям Института цитологии РАН (2022 г., Санкт-Петербург); VII Съезде биофизиков России (2023 г., Краснодар); XX Международной научно-практической конференции «Потенциал практических и фундаментальных научных исследований в медицине» (2023 г., Казань); 26-ой Пущинской школе-конференции молодых ученых с международным участием «Биология – наука XXI века» (2023 г., Пущино); V Международной научной конференции «Исследования молодых ученых в биологии и экологии» (2024 г., Саратов) и др.

Публикации. Основные материалы диссертации полностью изложены в 6 статьях в рецензируемых изданиях, из них 2 статьи в журналах, входящих в Перечень ВАК по специальности 1.5.2. Биофизика (биологические науки), и 3 статьи в журналах, индексируемых в международных базах данных. По результатам диссертации получено два патента РФ. Опубликовано 16 тезисов докладов на конференциях международного и всероссийского уровня.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 151 странице машинописного текста и состоит из введения, четырех глав (обзор литературы, описание объектов и методов исследования, изложение результатов и их обсуждение), заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и четырех приложений. Список литературы включает 207 источников, из них 95 на иностранном языке. В работе представлено 12 таблиц и 44 рисунка.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Исследование растворимости и антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли и других бета-лактамных антибиотиков после воздействия на них импульсным магнитным полем

В работе основным объектом исследования являлась бензилпенициллина натриевая соль (ПАО «Синтез», Россия) в порошкообразном виде, подвергавшаяся магнитно-импульсному воздействию. При этом использовалась одна партия препарата. Бензилпенициллин – вторичный метаболит *Penicillium chrysogenum*, плохо растворим в воде, поэтому применяется в форме натриевой соли с содержанием основного вещества не менее 96%. Дополнительно исследовались другие бета-лактамные антибиотики цефтриаксон (Рафарма, Россия) в форме натриевой соли и амоксициллин (Hemofarm, Сербия).

Поскольку бензилпенициллин применяется в растворенном виде, ключевой интерес представляет поведение обработанного ИМП порошка после растворения. С учетом данных о влиянии МП на растворимость лекарственных соединений [Zyburtowicz-Ćwiartka et al., 2025; Ivashchenko et al., 2002; Krishnan et al., 2010] определяли минимальное количество растворителя, необходимое для полного перевода вещества в раствор (ОФС.1.2.1.0005). Растворение проводили поэтапно, добавляя растворитель порциями и контролируя полноту растворения визуально в проходящем свете — до исчезновения частиц. Контрольный (необработанный) образец переходил в раствор при концентрации 1,52±0,01 г/мл, тогда как в образцах, подвергнутых воздействию ИМП, этот показатель возрастал до 1,62±0,03–1,70±0,06 г/мл, т.е. для полного растворения требовалось меньшее количество растворителя. Полученные значения (1,52–1,70 г/мл) не являются показателями растворимости в фармакопейном смысле, а представляют фактические концентрации в момент полного визуального растворения. Таким образом, обработка порошкообразного бензилпенициллина ИМП позволяет переводить его в раствор при меньшем количестве растворителя, что может быть обусловлено изменением растворимости препарата под действием ИМП. На втором этапе экспериментов определяли концентрацию бензилпенициллина методом ВЭЖХ, пробу отбирали из верхнего слоя перенасыщенного раствора. Результаты ВЭЖХ-определения концентрации бензилпенициллина до и после обработки соединения представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты анализа растворов бензилпенициллина натриевой соли до и после обработки порошкообразного соединения ИМП

Режим воздействия ИМП	Концентрация, мг/мл	Площадь пика бензилпенициллина, mAU·сек			
		1	2	3	Среднее значение
Контроль	250,45±9,02	192,65	191,49	172,10	185,41
ИМП $0,09 \cdot 10^6$ А/м	474,09±6,54*	342,15	350,79	358,87	350,60
ИМП $0,50 \cdot 10^6$ А/м	453,84±2,15*	332,65	336,22	338,06	335,64
ИМП $0,82 \cdot 10^6$ А/м	301,42±0,94*	222,70	222,08	224,40	223,06

Примечание – Данные представлены в виде среднего значения ± SE. *: $p \leq 0,05$ (Параметрический анализ t-критерий Стьюдента, t-критерий Уэлча).

Концентрация бензилпенициллина в растворах опытных групп превышала контрольную: при обработке ИМП с напряженностью $0{,}09 \cdot 10^6$А/м – в 1,9 раза, при $0{,}50 \cdot 10^6$А/м – в 1,8 раза, при $0{,}82 \cdot 10^6$А/м – в 1,2 раза. Ранее полученная концентрация при поэтапном растворении антибиотика (1,52–1,70 г/мл) указывает на предельный объем растворителя необходимый для перевода 0,5 г бензилпенициллина в жидкое состояние, а полученные результаты по повышению концентрации растворов антибиотика методом ВЭЖХ при условии, что первоначальные растворы готовились из насыщенного раствора, свидетельствуют о повышении растворимости бензилпенициллина. Дальнейшие исследования были направлены на определение антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли после обработки ИМП.

При обработке ИМП порошкообразного препарата бензилпенициллина натриевой соли с напряженностями $H=(0{,}09 \div 1{,}02) \cdot 10^6$А/м с частотой разряда f=40 кГц при количестве импульсов n=1 наблюдали статистически значимый рост диаметров зон ингибирования роста бактерий до 24%, что свидетельствует об увеличении антибактериальной активности антибиотика (рисунок 1). Был расширен диапазон напряженностей МП $H=(0{,}03 \div 0{,}08) \cdot 10^6$ А/м с учетом ранее полученных значений диаметров ингибирования роста бактерий *Escherichia coli M-17* (рисунок 2). В интервале напряженностей МП $H=(0{,}03 \div 0{,}06) \cdot 10^6$ А/м не было отмечено статистически значимых отличий в размерах зон ингибирования роста бактерий *E. coli M-17* по отношению к контролю, следовательно, можно сделать вывод, что рост антибактериальной активности начинается с воздействия ИМП при $H=0{,}08 \cdot 10^6$А/м. Исследования изменения антибактериальной активности при других напряженностях не проводились из-за ограничений энергоемкости существующей МИУ.

Поскольку обработка ИМП бензилпенициллина натриевой соли вызывает повышение его антибактериальной активности, представляет интерес исследование времени сохранения данного эффекта для возможного применения препарата в медицинской и ветеринарной практике. Были получены следующие результаты (рисунок 3). Через три часа хранения обработанного ИМП порошкообразного препарата бензилпенициллина натриевой соли средний диаметр зоны лизиса *E. coli M-17* после воздействия ИМП с напряженностями $H=(0{,}09 \div 0{,}82) \cdot 10^6$ А/м был достоверно выше на 14-21%, чем диаметр зоны лизиса в контрольных чашках необработанного антибиотика. Через сутки хранения сохранение статистически значимого увеличения антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли наблюдали только в случае обработки порошка антибиотика ИМП с напряженностями $H=(0{,}50 \div 0{,}82) \cdot 10^6$ А/м.

Отмечается тенденция к постепенному ослаблению эффекта после хранения обработанного препарата в течение 42 часов после обработки ИМП, не было зафиксировано статистически значимых различий с контрольным образцом при $H==(0{,}09 \div 0{,}50) \cdot 10^6$ А/м, только при $H=0{,}82 \cdot 10^6$ А/м были отмечены менее выраженные отклонения в сторону увеличения зон ингибирования роста бактерий *E. coli M-17,* не вызывающие существенного отклонения от контрольной группы (7%) (рисунок 4).

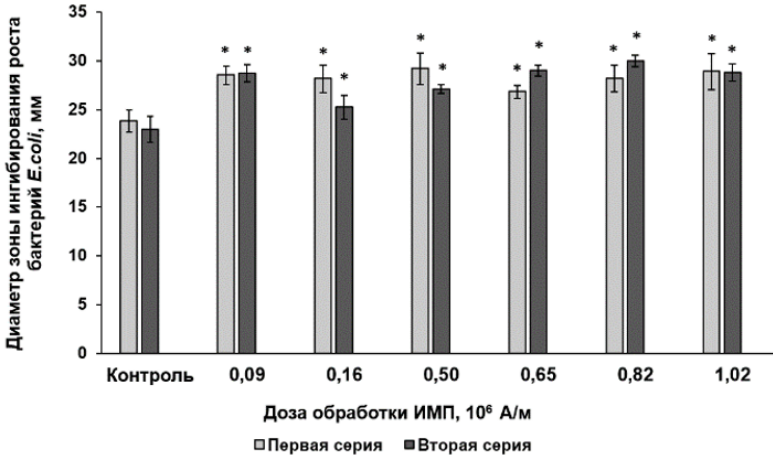


Рисунок 1 – Диаметры зон ингибирования роста *E. coli* М-17 при воздействии ИМП на порошок бензилпенициллина натриевой соли (две серии экспериментов с разрывом между ними – 2 месяца). Данные представлены в виде среднего значения ± SE. *: p≤0,05 (Параметрический анализ t-критерий Стьюдента; t-критерий Уэлча)

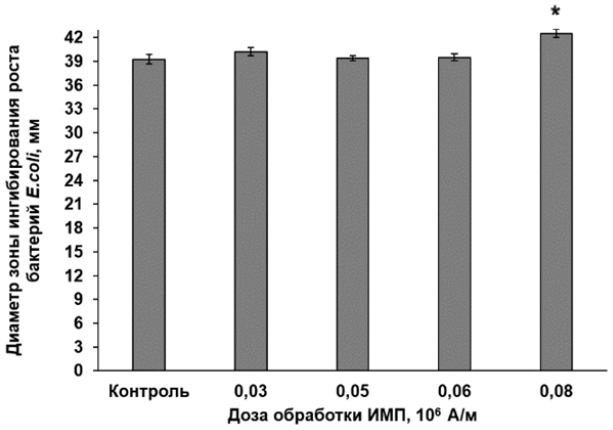


Рисунок 2 – Диаметры зон ингибирования роста *E. coli* М-17 при воздействии ИМП на порошкообразный препарат бензилпенициллина натриевой соли при низких параметрах воздействия. Данные представлены в виде среднего значения ± SE; ns: достоверных различий нет; *: p≤0,05 (Параметрический анализ t-критерий Стьюдента, t-критерий Уэлча)

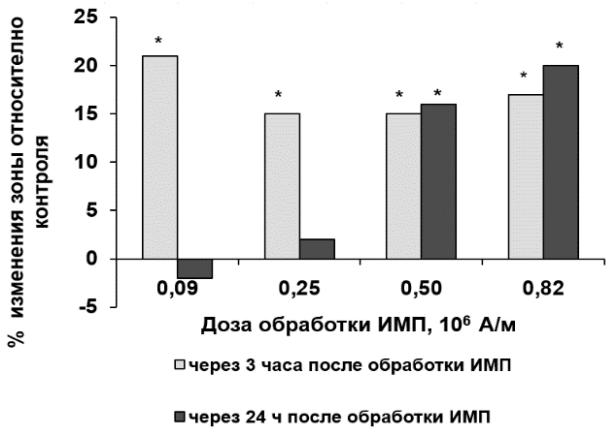


Рисунок 3 – Изменения диаметров зон ингибирования роста *E. coli* М-17 (относительно контроля без воздействия на препарат ИМП) для порошкообразного бензилпенициллина натриевой соли, обработанного ИМП, при различном времени хранения обработанного препарата (3 часа и 24 часа). Данные представлены в виде среднего значения ± SE. *: p≤0,05 (Параметрический анализ t-критерий Стьюдента)

Отмечается тенденция постепенного ослабления эффекта после хранения обработанного препарата в течение 42 часов после обработки ИМП, так как не было зафиксировано статистически значимых различий с контрольным образцом, который не подвергался воздействию ИМП.

На рисунке 5 представлены результаты эксперимента по исследованию антибактериальной активности препарата бензилпенициллина натриевой соли после обработки ИМП в порошкообразном виде в отношении бактерий *Micrococcus luteus.* При обработке ИМП порошкообразного препарата бензилпенициллина натриевой соли отмечены менее выраженные отклонения в сторону увеличения зон ингибирования роста бактерий *Micrococcus luteus,* не вызывающие существенного отклонения от контрольной группы (11-13%) при напряженностях

Н=0,09·10^6 А/м и Н=0,50·10^6 А/м. Величина наблюдаемых изменений невелика, но соответствует воспроизводимым биологическим эффектам, характерным для воздействия МП на биологические системы [Бинги, 2002], эффект был статистически значим.

В настоящее время бензилпенициллина натриевая соль редко применяется в медицинской практике, поэтому существует потребность в повышении антибактериального эффекта других бета-лактамных антибиотиков. Были проведены эксперименты по исследованию антибактериальной активности амоксициллина и цефтриаксона после воздействия ИМП. Осуществлялось воздействие ИМП на препарат амоксициллина при напряженностях ИМП Н=0,09·10^6 А/м, Н=0,82·10^6 А/м с количеством импульсов n=1 и частотой разрядного тока f=40 кГц. Воздействие ИМП на амоксициллин не вызывало существенного отклонения в сторону увеличения зон ингибирования роста бактерий *Escherichia coli* М-17 по сравнению с контрольной группой (7%) при Н=0,82·10^6 А/м (рисунок 6), эффект был статистически значим.

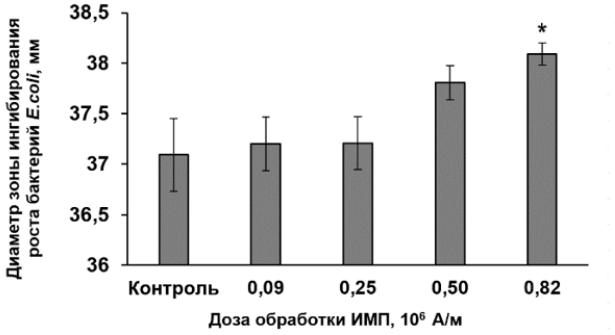


Рисунок 4 – Изменения диаметров зон ингибирования роста *E. coli M-17* относительно контроля при воздействии ИМП на порошкообразный препарат бензилпенициллина натриевой соли при различном времени хранения обработанного порошкообразного антибиотика (42 часа). Данные представлены в виде среднего значения ± SE; ns: достоверных различий нет; *: p≤0,05 (Параметрический анализ t-критерий Стьюдента, t-критерий Уэлча)

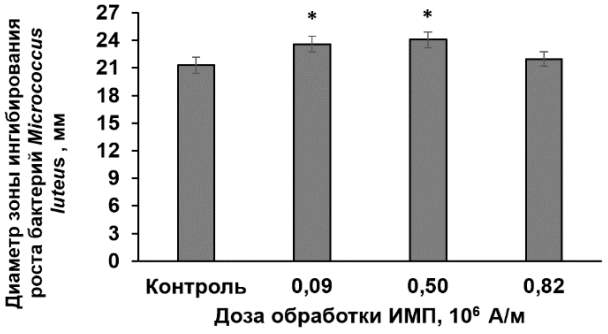


Рисунок 5 – Диаметры зон ингибирования роста *Micrococcus luteus* при воздействии ИМП на порошкообразный препарат бензилпенициллина натриевой соли. Данные представлены в виде среднего значения ± SE. *: p≤0,05 (Параметрический анализ t-критерий Стьюдента)

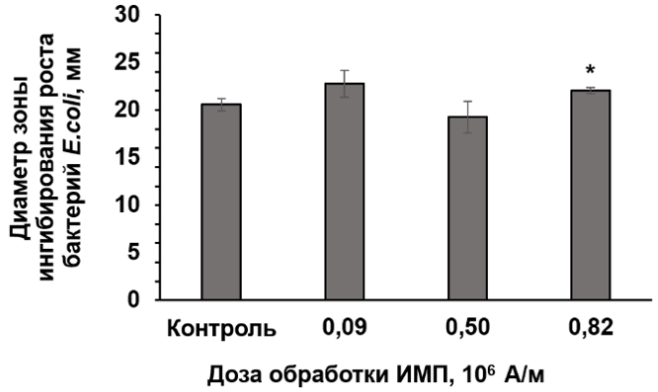


Рисунок 6 – Диаметры зон ингибирования роста *E. coli M-17* при воздействии ИМП на порошкообразный амоксициллин. Данные представлены в виде среднего значения ± SE. *: p≤0,05 (Параметрический анализ t-критерий Стьюдента, t-критерий Уэлча).

По полученным результатам можно сделать вывод, что обработка ИМП амоксициллина в порошкообразном виде способствует увеличению антибактериальной активности, но в меньшей степени, чем было отмечено после воздействия ИМП на бензилпенициллина натриевую соль.

Возможно, это связано с дополнительными группами NH_2 и OH молекулы амоксициллина вблизи бензольного кольца. Из-за этого молекула амоксициллина, возможно, более устойчива к воздействию ИМП.

По результатам экспериментов (рисунок 7а) по воздействию ИМП на цефтриаксон при напряженности МП $H=0{,}50\cdot10^6$ А/м отмечены менее выраженные отклонения в сторону уменьшения зон ингибирования роста бактерий *Escherichia coli* М-17 (14%), эффект был статистически значим. При более высокой напряженности $H=0{,}82\cdot10^6$ А/м для порошкообразного цефтриаксона зафиксировано статистически значимое снижение диаметров зон ингибирования на 29% по сравнению с контролем. При воздействии ИМП в диапазоне $H=(0{,}16\div0{,}40)\cdot10^6$ А/м на цефтриаксон статистически значимых изменений антибактериальной активности не установлено (рисунок 7б).

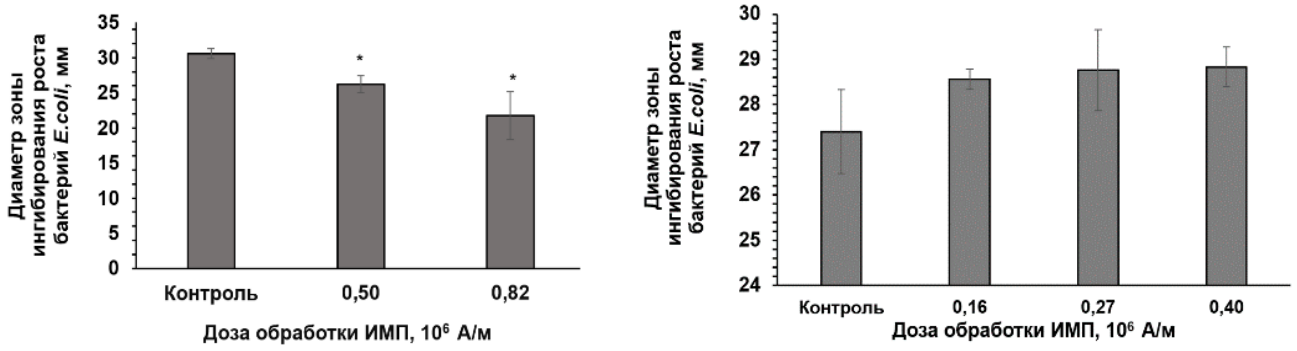


Рисунок 7 – Диаметры зон ингибирования роста *E. coli M-17* при воздействии ИМП на порошкообразный цефтриаксон с напряженностями $H=0{,}50\cdot10^6$А/м и $H=0{,}82\cdot10^6$А/м. Данные представлены в виде среднего значения ± SE. *: $p\leq0{,}05$ (Параметрический анализ t-критерий Стьюдента) (а). Диаметры зон подавления роста *E. coli M-17* при воздействии ИМП на порошкообразный цефтриаксон с напряженностями $H=(0{,}16\div0{,}40)\cdot10^6$ А/м. Данные представлены в виде среднего значения ± SE; ns: достоверных различий нет; *: $p\leq0{,}05$ (Параметрический анализ t-критерий Стьюдента, t-критерий Уэлча) (б)

В отличие от бензилпенициллина натриевой соли, молекула цефтриаксона является достаточно сложной по химической структуре, содержит в себе дигидротиазиновое кольцо вместо пятичленного тиазолидинового, как в случае бензилпенициллина [Chaudhry et al., 2019]. В ходе проведённых экспериментов было установлено: чтобы повысить эффективность цефтриаксона после обработки ИМП, необходимо применить более низкие параметры воздействия, способствующие повышению биологической активности. Возможно, это связано со строением молекулы цефтриаксона: группировки вблизи бета-лактамного антибиотика более массивные, по сравнению с молекулой бензилпенициллина натриевой соли, поэтому молекула цефтриаксона становится чувствительнее к воздействию ИМП. Таким образом, выбор параметров ИМП для изменения (увеличения) биологической активности других бета-лактамных антибиотиков будет зависеть от структуры группировок вблизи бета-лактамного кольца.

2. Исследование механизма изменения антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли после обработки импульсным магнитным полем

В этой главе обсуждаются результаты исследования механизма изменения антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли.

Обработка бензилпенициллина натриевой соли ИМП проводилась в закрытых флаконах (сухой порошок, сопротивление порошка R=3000 МОм), что исключало наведённые токи I=(3-8)·10^{-7} А и внутренний нагрев. Температура раствора до и после воздействия оставалась стабильной (18 ℃). Тепловизионные замеры (с точностью до 0,06℃) доказали, что даже при максимальной напряжённости ИМП (H=1,02·10^6 А/м) нагрев флакона составил всего 0,2 ℃, а температура порошка не изменилась. Таким образом, магнитно-импульсная обработка не вызывает нагрева в порошкообразном препарате.

Были проведены исследования по изучению образования свободных радикалов после обработки ИМП соединения методом электронного парамагнитного резонанса (рисунок 8).

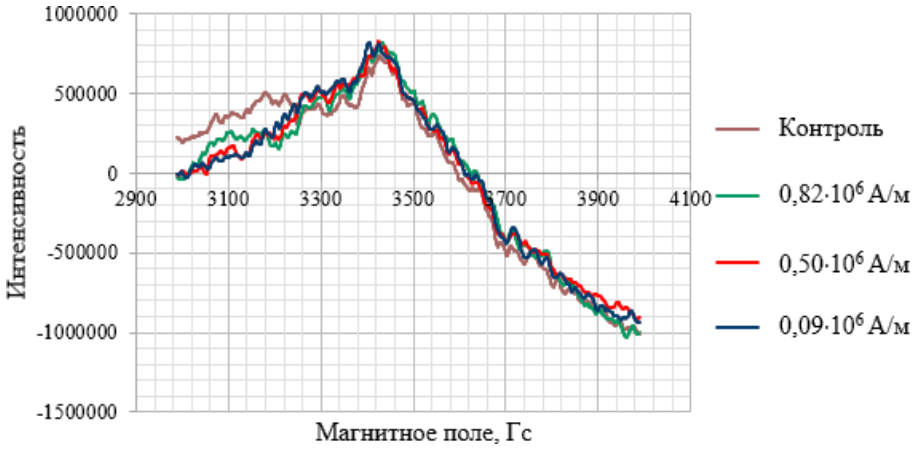


Рисунок 8 – Спектры ЭПР исследуемых образцов бензилпенициллина натриевой соли

Слабые переходы в ЭПР-спектрах можно отнести к радикальным центрам органического происхождения, которые могут свидетельствовать о наличии парамагнитных примесей. Поскольку ионы железа и меди вносятся в питательную среду при биосинтезе бензилпенициллина [Sajjad-Ur, Muhammad et al., 2012], эти примеси, вероятно, могут выступать первичной мишенью действия ИМП на молекулу, при этом чистота такого препарата по ФС составляет не менее 96%.

Однако не было зафиксировано изменений в концентрации радикалов после обработки МП, по сравнению с необработанным образцом, следовательно, обработка ИМП бензилпенициллина натриевой соли не способствует образованию свободных радикалов.

По данным ЯМР ^{1}H-спектроскопии, обработка ИМП сохраняет каркас бензилпенициллина натриевой соли, но изменяет химические сдвиги метиленовых протонов (CH_2) и константы спин-спинового взаимодействия ($^2J_{HH}$). В исходном спектре сигнал CH_2 проявляется как мультиплет при 3,60-3,70 м.д. с $^2J_{HH}$ =15,08 Гц. После обработки ИМП при H=0,64·10^6 А/м константы изменились на 15,08 Гц и 15,04 Гц, а при H=1,01·10^6 А/м на 15,07 Гц и 15,10 Гц. Наблюдаемые изменения при обработке ИМП бензилпенициллина носят тенденционный характер в спектрах и указывают на

изменение взаимного расположения метиленовых протонов.

На рисунках 9, 10 представлены ИК-Фурье спектры препарата бензилпенициллина натриевой соли в результате воздействия на препарат ИМП.

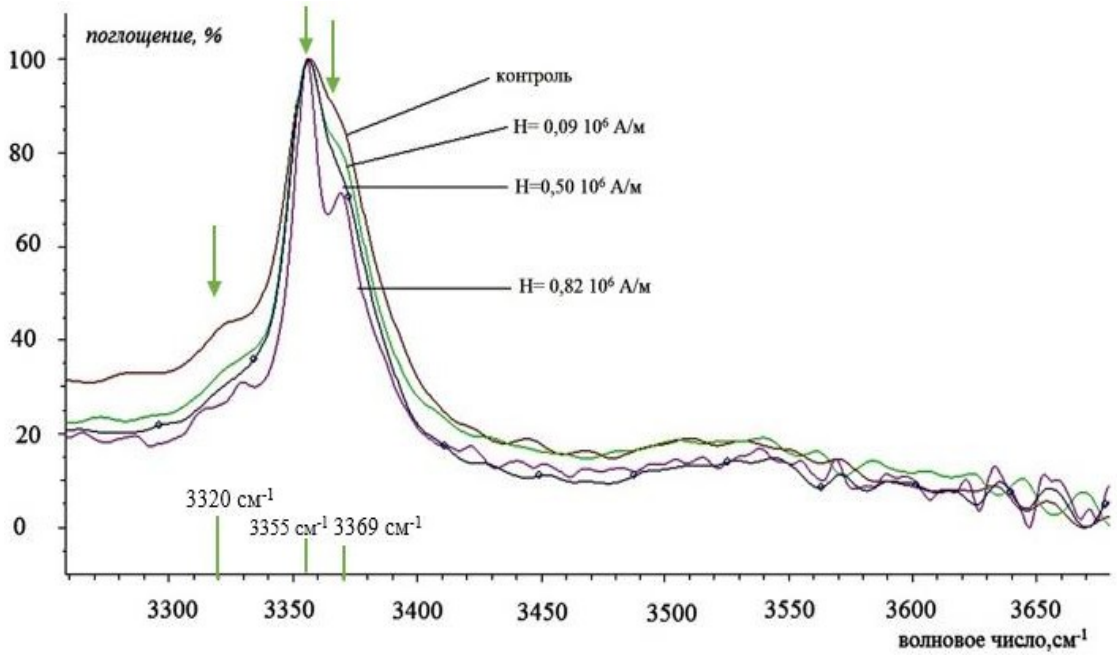


Рисунок 9 – Фрагменты ИК-Фурье спектров бензилпенициллина натриевой соли до и после обработки ИМП

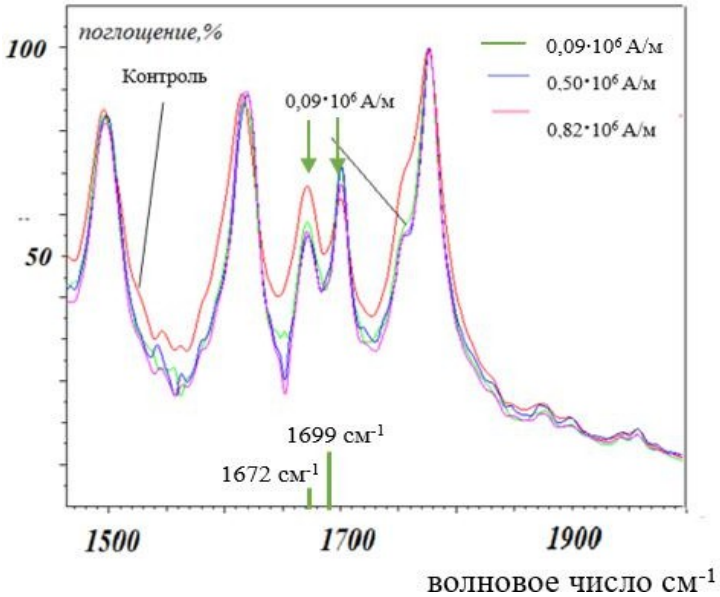


Рисунок 10 – Фрагменты ИК-спектров бензилпенициллина натриевой соли до и после обработки ИМП

В области N-H валентных колебаний наблюдаются полосы: 3320 $см^{-1}$ (слабая), 3355 $см^{-1}$, 3369 $см^{-1}$ (плечо). Методом ИК-Фурье спектроскопии зафиксировано, что увеличение интенсивности магнитного поля при воздействии с напряженностями в диапазоне $H=(0,09\div0,82)\cdot10^6$А/м на бензилпенициллина натриевую соль приводит к уменьшению интенсивности полосы при 3320 $см^{-1}$ и разрешению полос при 3355 $см^{-1}$ и 3369 $см^{-1}$, которые относятся к валентным колебаниям связи N-H.

На рисунке 10 представлены полосы поглощения антибиотика в карбонильной области. Из приведенных спектров можно сделать следующие выводы: обработка ИМП молекулы бензилпенициллина натриевой соли привела к небольшим изменениям валентных колебаний связи C=O лактамного цикла (полоса 1672 $см^{-1}$) и связи C=O амидной группы (полоса 1699 $см^{-1}$), при этом изменений в колебаниях связи C=O карбоксильной группы (полоса 1773 $см^{-1}$) не выявлено.

Таким образом, обнаруженные методом ЯМР ^{1}H-спектроскопии изменения химических сдвигов и констант спин-спинового взаимодействия для метиленовых протонов, а также изменения в ИК-Фурье спектрах, затронувшие амидную группу (полярные связи C=O, N-H) и полярной связи C=O бета-лактамного цикла, вероятно, свидетельствуют об изменении пространственной ориентации бензильного заместителя в молекуле бензилпенициллина натриевой соли под действием ИМП.

3. Исследование безопасности применения бензилпенициллина натриевой соли после обработки импульсным магнитным полем

Данная глава содержит изложение и обсуждение результатов исследования по изучению безопасности применения бензилпенициллина натриевой соли после магнитно-импульсной обработки, так как ИМП при исследуемых напряженностях МП потенциально могут применяться для сборки колпачка пенициллинового флакона. Установлено, что обработка ИМП сухой субстанции бензилпенициллина натриевой соли не вызывала активации хемилюминесценции по сравнению с контролем, а значит образования свободных радикалов не происходило.

Исследования по изменению острой токсичности выполнялись на лабораторных мышах, которым вводился препарат бензилпенициллина натриевой соли до и после обработки ИМП. Были получены показатели острой токсичности бензилпенициллина натриевой соли, подвергшейся обработке ИМП (LD_{50}, мг/кг– 176,4±12,2) и не подвергшейся воздействию (LD_{50}, мг/кг– 177,3±13,4).По результатам проведенного исследования установлено, что по расчетным показателям LD_{50} обработка ИМП не способствовала изменению острой токсичности бензилпенициллина натриевой соли. Следовательно, острая токсичность исследуемого бета-лактамного антибиотика после обработки ИМП не отличается от необработанного бета-лактамного антибиотика. В проведенных экспериментах полученные данные дают возможность сделать выводы, что обработка ИМП бензилпенициллина натриевой соли не способствует образованию свободных радикалов, сохраняющихся с течением времени, не проявляет высокой токсичности по сравнению с необработанным антибиотиком, что делает возможным применение обработанного ИМП бета-лактамного антибиотика в медицинской и ветеринарной практике.

4. Обсуждение результатов

Бензилпенициллина натриевая соль – биогенное соединение, продуцируемое *Penicillium chrysogenum*, проявляющее антибактериальную активность в отношении различных микроорганизмов, включая *Escherichia* [Poosarla et al., 2021]. В данной работе использовалась культура микроорганизмов *Escherichia coli* М-17 данный штамм является непатогенным и

чувствительным к антибиотикам, что подтверждается в работе [Патент №2144954, 2000]. В штамме *Escherichia coli* М-17 не было обнаружено детерминант антибиотикорезистентности, способных к трансмиссивному переносу, по сравнению с штаммом *Escherichia coli* ВМ, где выявлены гены устойчивости к аминогликозидам, сульфаниламидам и триметоприму [Белова и др., 2019].

В рамках диссертационной работы показано, что однократная обработка порошкообразного биогенного препарата ИМП в диапазоне H=(0,08÷1,02)·10⁶ А/м (B=0,10÷1,28 Тл, E = 314÷4019 В/м, f=40 кГц) повышает антибактериальную активность бета-лактамного антибиотика до 24% в отношении грамотрицательных микроорганизмов *E. coli* М-17. При хранении обработанного ИМП порошка (через 3, 24 и 42 часа) наблюдался эффект релаксации, т.е. постепенный возврат биологической активности к исходному уровню (контрольной группы) в зависимости от интенсивности магнитно-импульсного воздействия. ИМП в указанном диапазоне не оказывает теплового влияния на биогенный препарат внутри флакона.

В процессе биосинтеза бензилпенициллина в питательную среду добавляют ионы железа и меди [Sajjad-Ur et al., 2012], которые, обладая нескомпенсированным спином, могут быть чувствительными к магнитному полю. Это согласуется с теорией ферромагнитного загрязнения [Kobayashi et al., 1995], согласно которой биологические эффекты МП обусловлены присутствием ферромагнитных примесей (например, ионов железа). Метод ЭПР-спектроскопии при исследовании обработанного ИМП бензилпенициллина выявил слабые сигналы радикальных центров органического происхождения, которые могут свидетельствовать о наличии таких примесей.

В ходе биосинтеза бензилпенициллина с применением штамма *Penicillium chrysogenum* в порошкообразном препарате могут присутствовать микропримеси, обусловленные особенностями ферментативного процесса. К числу таких примесей могут относиться: линейный трипептид ACV (ACV – δ-(L-α-аминоадипил)-L-цистеин-D-валин), являющийся предшественником в биосинтетическом пути, изопенициллин N – промежуточный метаболит, 6-аминопенициллановая кислота (6-АПК) – ключевой промежуточный продукт, используемый в дальнейшем для синтеза пенициллинов [Martín et al., 2010; Martín et al., 1999; Aharonowitz et al., 1992; Álvarez et al., 1993]. Несмотря на наличие данных примесей, их концентрация в конечном продукте крайне мала, так как содержание основного вещества в препарате (бензилпенициллина натриевой соли) должно составлять согласно фармакопейной статье ФС.2.1.0065.18 не менее 96%. В связи с этим влияние данных примесей при их обработке ИМП на физико-химические и биологические свойства препарата бензилпенициллина натриевой соли можно считать незначительным.

Обработка ИМП сохраняет каркас молекулы бензилпенициллина натриевой соли (по данным ЯМР ^{1}H-спектроскопии), но вызывает изменения химических сдвигов метиленовых протонов (CH_2) и констант спин-спинового взаимодействия ($^2J_{HH}$), что указывает на метастабильные изменения их пространственной ориентации, проявляющиеся после растворения препарата. По данным ИК-Фурье спектроскопии, увеличение интенсивности МП H=(0,09÷0,82)·10⁶ А/м приводит к: уменьшению интенсивности полосы 3320 см$^{-1}$ связи N-H, разрешению полос 3355 см$^{-1}$ и 3369 см$^{-1}$ связи N-H,

изменениям валентных колебаний связи C=O лактамного цикла (полоса 1672 $см^{-1}$) и связи C=O амидной группы (полоса 1699 $см^{-1}$). Таким образом, совокупность данных, полученных методами ^{1}H-ЯМР-спектроскопии и ИК-Фурье спектроскопии, свидетельствует о том, что ИМП вызывает изменения в состоянии функциональных групп бензилпенициллина натриевой соли, играющих ключевую роль в образовании водородных связей с молекулами воды, что, вероятно, будет оказывать влияние на растворимость вещества.

В данной работе мы можем говорить об увеличении гидратации модифицированной в ИМП молекулы бензилпенициллина натриевой соли при взаимодействии с молекулами воды, так как полученные результаты по увеличению концентрации растворов антибиотика методом ВЭЖХ, свидетельствуют о повышении растворимости бензилпенициллина (рисунок 11).

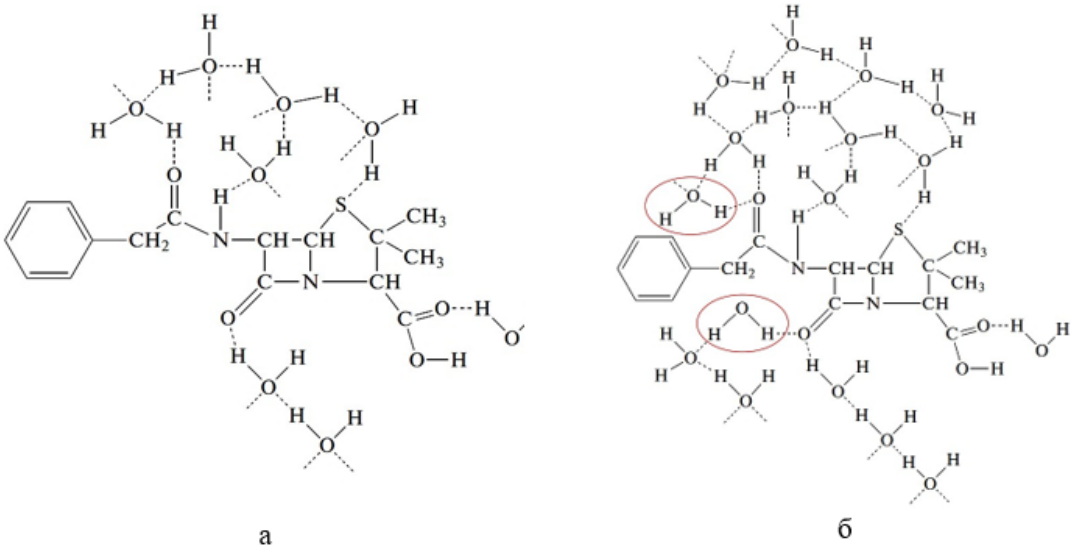


Рисунок 11 – Гидратация иона бензилпенициллина натриевой соли до (а) и после (б) воздействия ИМП. Красным цветом показано присоединение дополнительных молекул воды к полярным группировкам бензилпенициллина натриевой соли, обработанной ИМП

Повышение растворимости бензилпенициллина натриевой соли, зафиксированное в работе, коррелирует с данными ИК-Фурье спектроскопии, показавшими изменения интенсивности полос валентных колебаний полярных связей N-H и C=O. Это дает основание предполагать, что под влиянием ИМП полярные группы приобретают большую доступность для сольватации.

Важность пространственной ориентации группировок для гидратации и биологической активности ранее была продемонстрирована в работе [Fedotova et al., 2020] на примере ацетилхолина: изменение ориентации группировок влияет на метаболизм нейротрансмиттера в синаптической щели в зависимости от гидратации молекулы. В данной работе изменения пространственной ориентации метиленовых протонов, а также изменения, затронувшие амидную группу (полярные связи C=O, N-H) и полярную связь C=O бета-лактамного цикла, вероятно, свидетельствуют об изменении пространственной ориентации бензильного заместителя в молекуле бензилпенициллина. Эффект изменения взаимной ориентации метиленовых протонов, выявленный в растворе бензилпенициллина методом ЯМР ^{1}H-спектроскопии, наблюдается даже после разрушения кристаллической решетки (после перехода молекулы в раствор), что, скорее

всего, указывает на сохранение метастабильных состояний ориентации группировок, удерживающихся после гидратации. Следовательно, предварительная модификация твердой фазы бензилпенициллина, вероятно, изменяет взаимное расположение его группировок в области бензильного заместителя, что косвенно подтверждается повышением показателей растворимости биогенного препарата.

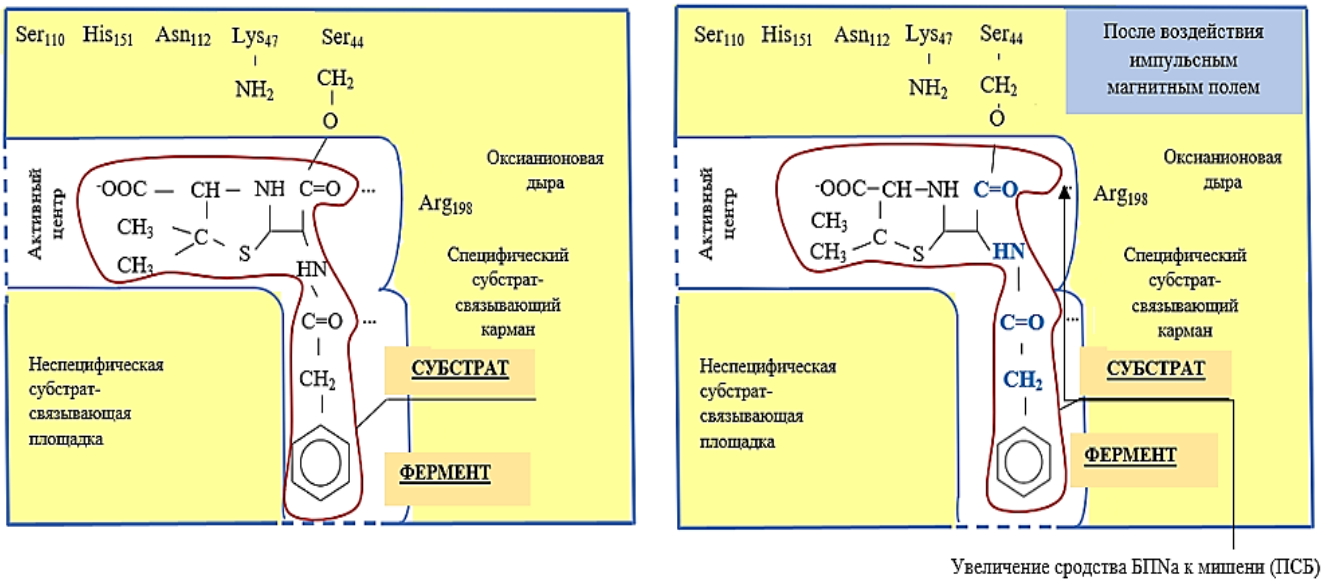


Рисунок 12 – Гипотетическая схема взаимодействия молекулы бензилпенициллина натриевой соли с пенициллин-связывающим белком PBP5 *E. coli* до и после воздействия ИМП. Примечание – Химические группировки бензилпенициллина натриевой соли, в которых произошли изменения после воздействия ИМП, отмечены голубым цветом. Схематично представлено увеличение сродства обработанного ИМП препарата бензилпенициллина натриевой соли с активным центром PBP5 *E. coli* в данных областях молекул. Через 42 часа после повышения биологической активности бензилпенициллина натриевой соли наступает постепенное ослабление эффекта

Известно, что эффективность гидролиза бета-лактамов под действием транспептидаз (пенициллин-связывающих белков) зависит от стереохимического соответствия между активным центром фермента и субстратом [Глухарева и др., 2021]. Предположительно, обработанная ИМП молекула может приобретать пространственное расположение группировок более комплементарное для последующего взаимодействия с ферментом-мишенью. Обнаруженные методом ЯМР ^{1}H-спектроскопии изменения химических сдвигов и констант спин-спинового взаимодействия для метиленовых протонов, а также изменения в ИК-Фурье спектрах, затронувшие амидную группу (полярные связи C=O, N-H) и полярную связь C=O бета-лактамного цикла, вероятно, свидетельствуют об изменении пространственной ориентации бензильного заместителя в молекуле бензилпенициллина натриевой соли под действием ИМП.

На основе анализа литературных данных и полученных результатов была построена гипотетическая схема взаимодействия молекулы бензилпенициллина натриевой соли после воздействия ИМП с активным центром пенициллин-связывающего белка PBP5 *E. coli,* объясняющая увеличение антибактериального действия антибиотика, обработанного ИМП

(рисунок 12) [Kumarasiri et al., 2013]. Зафиксированное увеличение растворимости бензилпенициллина натриевой соли обусловлено увеличением гидратной оболочки молекулы и согласуется с данными ИК-Фурье (изменение полос N–H и C=O), предположительно, указывает на то, что под влиянием ИМП полярные группы становятся более доступными для сольватации. Вероятно, пространственное расположение группировок молекулы бензилпенициллина, обработанного ИМП, будет способствовать более специфичному связыванию с активным центром фермента транспептидазы, усиливая его антибактериальное действие. Таким образом, модификация бензилпенициллина натриевой соли после магнитно-импульсного воздействия, по-видимому, будет обеспечивать более специфическое связывание модифицированной молекулы бензилпенициллина натриевой соли с ПСБ *E. coli*; такое связывание бета-лактамного антибиотика с активным сериновым центром ПСБ будет повышать скорость реакции ингибирования ПСБ, что будет приводить к увеличению гибели микроорганизмов.

Таким образом, ИМП не изменяет структуру молекулы, не повышает токсичность и не приводит к образованию свободных радикалов. Метод обработки ИМП безопасен и перспективен для улучшения свойств препаратов (растворимости, биологической активности), в том числе для потенциального использования магнитно-импульсной технологии для сборки колпачка пенициллинового флакона. Эффект повышения биологической активности зависит от интенсивности поля, что позволяет проводить обработку непосредственно перед применением (например, перед инъекцией). Установленные закономерности могут быть применимы для направленной модификации других биогенных соединений и лекарственных средств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований было доказано, что ИМП оказывает влияние на изменение биологической активности бета-лактамных антибиотиков (бензилпенициллина натриевой соли, цефтриаксона) как в сторону увеличения, так и в сторону уменьшения антибактериальной активности.

Установлено, что повышение биологической активности бензилпенициллина натриевой соли зависит от интенсивности воздействия ИМП: H=(0,08÷1,02)·106 А/м ↔ B=0,10÷1,28 Тл, E=314÷4019 В/м, f=40 кГц, а наступающее впоследствии постепенное ослабление эффекта после обработки бета-лактамного антибиотика имеет зависимость от величины напряженности МП.

Было также исследовано действие ИМП на порошок бензилпенициллина натриевой соли для выяснения вопроса токсического действия (безопасности) магнитно-импульсной обработки на примере возможности образования свободных радикалов и изменения острой токсичности соединения, так как биогенное соединение в технологическом процессе сборки колпачка пенициллинового флакона подвергается магнитному воздействию. Исследована возможность генерации свободных радикалов в молекуле бензилпенициллина натриевой соли после обработки ИМП методом ЭПР-спектроскопии и методом хемилюминесценции на простых модельных

системах, имитирующих наиболее распространенные реакции свободно-радикального окисления в организме и в средах. Полученные результаты показали, что обработка ИМП бензилпенициллина натриевой соли не способствует образованию свободных радикалов, сохраняющихся с течением времени. Дополнительно проводилось исследование по изучению острой токсичности бензилпенициллина натриевой соли после магнитно-импульсного воздействия. Острая токсичность исследуемого бета-лактамного антибиотика после обработки ИМП не отличалась от необработанного антибиотика, следовательно, в исследуемом диапазоне на бензилпенициллина натриевую соль магнитно-импульсная обработка не оказывает отрицательного воздействия.

Таким образом, полученные результаты об изменении биологической активности бета-лактамных антибиотиков желательно учитывать при разработке метода сборки колпачка пенициллинового флакона. Результаты показывают, что применение ИМП для решения технологической задачи не будет способствовать образованию свободных радикалов и изменению острой токсичности соединения, а при обработке ИМП изменение биологической активности препарата через 42 часа способствует релаксации, т.е. система будет возвращаться к исходному контрольному уровню. Полученные данные свидетельствуют о возможном применении ИМП для сборки колпачка пенициллинового флакона.

На первый взгляд, полученные результаты по изменению антибактериальной активности антибиотиков являются парадоксальными из-за диамагнитной природы соединений. Но в процессе данной работы была сделана попытка выяснить причины данного факта.

Для доказательства влияния магнитного фактора на бензилпенициллина натриевую соль были проведены дополнительные эксперименты по возможности возникновения тепловых воздействий методами термоэлектрического измерения температуры при помощи термопары и тепловизионного метода.

Согласно фармакопейной статье, содержание основного вещества бензилпенициллина натриевой соли должно составлять не менее 96%. Поскольку в процессе биосинтеза бензилпенициллина в питательную среду добавляют ионы железа и меди ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$), то первичной мишенью действия ИМП на молекулу бензилпенициллина, вероятно, выступают данные примеси [Sajjad-Ur et al., 2012]. Химическая структура каждой молекулы не изменяется, что подтверждено методом ЯМР ^{1}H-спектроскопии, так как сохраняется каркас бензилпенициллина натриевой соли и все связи экзоциклических фрагментов, следовательно, обработка ИМП не вызывает структурных изменений в молекуле препарата. Были зафиксированы изменения в химическом сдвиге и константе спин-спинового взаимодействия метиленовых протонов CH_2, расположенных рядом с бензольным кольцом, обработанной ИМП молекулы бензилпенициллина натриевой соли, свидетельствующие об изменении взаимной ориентации метиленовых протонов после модификации ИМП твердой фазы бензилпенициллина натриевой соли. Методом ИК-Фурье спектроскопии после воздействия ИМП на бензилпенициллина натриевую соль отмечаются изменения в полярных связях лекарственного препарата, расположенных близ бензольного кольца: такие связи, как C=O лактамного цикла, C=O амидной

группы, связь N-H.

Проведенные исследования по растворимости соединения показали, что обработка ИМП бензилпенициллина натриевой соли способствует статистически значимому увеличению растворимости антибиотика до 1,9 раза при исследовании методом ВЭЖХ. Повышение растворимости бензилпенициллина натриевой соли связано с увеличением гидратной оболочки в процессе растворения препарата и коррелирует с данными ИК-Фурье спектроскопии, показавшими изменения интенсивности полос валентных колебаний полярных связей N-H и C=O. Это дает основание предполагать, что под влиянием ИМП полярные группы приобретают большую доступность для сольватации.

Известно, что эффективность гидролиза бета-лактамов под действием транспептидаз (пенициллин-связывающих белков) зависит от стереохимического соответствия между активным центром фермента и субстратом [Глухарева и др., 2021]. Предположительно, обработанная ИМП молекула приобретает пространственное расположение группировок, которое является более специфичным для последующего взаимодействия с ферментом-мишенью. Обнаруженные методом ^{1}H-ЯМР спектроскопии изменения химических сдвигов и констант спин-спинового взаимодействия метиленовых протонов, а также изменения в ИК-Фурье спектрах, затронувшие амидную группу (полярные связи C=O, N–H) и связь C=O бета-лактамного цикла, вероятно, свидетельствуют об изменении пространственной ориентации бензильного заместителя под действием ИМП. Повышение растворимости бензилпенициллина натриевой соли обусловлено усилением гидратации полярных групп препарата. Предположительно, обработанная ИМП молекула может приобретать пространственное расположение группировок, обеспечивающее более специфическое связывание с активным центром транспептидазы. Следовательно, повышение сродства модифицированной молекулы к ферменту-мишени может приводить к усилению антибактериальной активности соединения.

Таким образом, все вышеуказанные подходы, примененные при выполнении работы, дали возможность прояснить вероятные причины формирования ответа в системе «ИМП-антибиотик-бактериальная клетка». Обобщение всех полученных по результатам эксперимента данных привело к основному выводу, что ИМП высокой напряженности можно применять для сборки колпачка пенициллинового флакона, так как не обнаружено изменений структуры препарата, появления свободных радикалов и острой токсичности обработанной ИМП бензилпенициллина натриевой соли. Такое воздействие будет приводить к разнонаправленным антибактериальным эффектам в отношении бета-лактамных антибиотиков с различным структурным строением, а также будет вызывать нестабильное сохранение антибактериального эффекта по истечении определенного времени хранения лекарственного препарата после магнитно-импульсного воздействия. Полученные данные о влиянии ИМП на бета-лактамные антибиотики дают возможность расширить современные представления о влиянии ИМП на молекулу препарата и ее свойства.

В связи с вышеизложенным, по результатам кандидатской диссертации были

сформулированы следующие **выводы:**

1. Однократное воздействие ИМП в диапазоне H=(0,08÷1,02)·10^6 А/м ↔ B=0,10÷1,28 Тл, E=314÷4019 В/м с частотой разрядного тока f=40 кГц способно усиливать антибактериальную активность бензилпенициллина натриевой соли в отношении некоторых микроорганизмов, при этом величина эффекта зависит от параметров обработки и вида тест-микроорганизмов, а длительность сохранения повышенной антибактериальной активности зависит от напряженности магнитного поля и составляет от 3 до 42 часов, после чего эффект постепенно ослабевает.

2. Однократное воздействие ИМП в диапазоне H=(0,09÷0,82)·10^6 А/м ↔ B=0,11÷1,03 Тл, E=345÷3234 В/м с частотой разрядного тока f=40 кГц модулирует биологическую активность других соединений (амоксициллина, цефтриаксона), повышая или снижая ее, в зависимости от параметров воздействия и группировок молекулы близ бета-лактамного кольца.

3. Было установлено, что магнитно-импульсное воздействие на бензилпенициллина натриевую соль сохраняет основную структуру молекулы, но вызывает химические сдвиги метиленовых протонов (CH_2) и константы их спин-спинового взаимодействия ($^2J_{HH}$), а также оказывает влияние на амидный фрагмент и бета-лактамный цикл молекулы.

4. Обработка бензилпенициллина натриевой соли ИМП в диапазоне H=(0,09÷0,82)·10^6 А/м ↔ B=0,11÷1,03 Тл, E=345÷3234 В/м приводила к повышению его растворимости.

5. Обработка бензилпенициллина натриевой соли ИМП не вызывает появления острой токсичности у лабораторных животных при внутрибрюшинном введении и не сопровождается образованием свободных радикалов, сохраняющихся с течением времени, указывая на отсутствие негативных эффектов.

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что импульсное магнитное поле высокой напряженности способно модифицировать физико-химические свойства бензилпенициллина натриевой соли и оказывать влияние на повышение ее биологической активности при сохранении основной молекулярной структуры. Поскольку воздействие ИМП высокой напряженности на препарат не сопровождается возникновением острой токсичности соединения и образованием свободных радикалов, сохраняющихся с течением времени, полученные данные свидетельствуют о потенциальной возможности применения магнитно-импульсной технологии для сборки колпачка пенициллинового флакона в медицинской промышленности. Вместе с тем установлено, что импульсное магнитное поле оказывает влияние и на другие бета-лактамные антибиотики, однако выраженность этого воздействия на их биологическую активность отличается от изменений, наблюдаемых для бензилпенициллина натриевой соли. Эффект изменения биологической активности носит индивидуальный характер и определяется как целевым патогеном, так и параметрами ИМП, поэтому для каждого конкретного случая требуется подбор оптимальных режимов воздействия. Следовательно, для практического использования данного метода воздействия ИМП в целях усиления биологической активности соединений необходимы дополнительные исследования для разработки индивидуальных подходов к модификации различных препаратов.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах, включенных в перечень ВАК по соответствующей специальности:

1. Богданов А.В., Роденко Н.А., Глущенков В.А., Жукова В.А., Васильева Т.И. Изучение причины повышения антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли после обработки импульсным магнитным полем высокой напряженности // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. – 2023. – Т. 19. – № 4. – С. 12-20 (ВАК, К3).
2. Роденко Н.А., Васильева Т.И., Вакарина Л.Д., Грачев В.А., Дегтева Ю.В., Бледных О.В. Изменение антибактериального эффекта бензилпенициллина натриевой соли после воздействия на препарат импульсным магнитным полем в широком диапазоне напряженностей // Вестник новых медицинских технологий. – 2024. – №4. – С.139-144 (ВАК, К2).

Статьи в рецензируемых изданиях, индексируемых в международных базах данных:

3. Glushchenkov V.A., Vasilyeva T.I., Purigin P.P., Belyaeva I.A., Rodenko N.A., Madyarova A.K., Jusupov R.Yu. Changes in the Antibacterial Activity of Benzylpenicillin Exposed to a Pulsed High-Intensity Magnetic Field // Biophysics. – 2019. – Vol. 64. – Issue 2. – P. 214-223 (Scopus, Q4).
4. Rodenko N.A., Zhukova V.A., Vasilyeva T.I., Glushchenkov V.A., Belyaeva I.A. Changes in the structure of the benzylpenicillin sodium salt molecule under the pulsed magnetic field // Journal of Biomedical Photonics and Engineering. – 2021. – Vol. 7. – Issue 1. – P.010305-1-010305-5 (Scopus, Q2).
5. Rodenko N.A., Vasilyeva T.I., Bogdanov A.V., Glushchenkov V.A. A Study of the mechanism of biological activity enhancement of benzylpenicillin sodium salt after treatment with pulsed magnetic field of high intensity // Biology Bulletin. – 2024. – Vol. 51, No. 12. – P. 1-8 (WoS, Scopus, Q4).

Статьи в иных рецензируемых изданиях:

6. Роденко Н.А., Беляева И.А., Васильева Т.И., Глущенков В.А., Самородов А.В., Пурыгин П.П. Изучение возможности использования бензилпенициллина натриевой соли, обработанной импульсным магнитным полем, в медицинских целях // Биофармацевтический журнал. – 2021. – Т. 13. – № 2. – С. 7-14 (ВАК).

Патенты:

1. Патент № 2704317, Российская Федерация, МПК A61N 2/04, A61K 31/43, A61P 31/04. Способ увеличения антибактериальной активности антибиотиков: № 2019113191: заявлено 29.04.2019; опубликовано 28.10.2019 / В.А. Глущенков, И.А. Беляева, Т.И. Васильева, Н.А. Роденко, А.В. Самородов, Р.Ю. Юсупов, В.Н. Козлов, Е.Е. Пономарев, П.П. Пурыгин.
2. Патент №213806, Российская Федерация, МПК A61N 2/04, A61J 3/00, H03K 3/00. Установка для магнитно-импульсной обработки медико-биологических объектов: № 2021118051: заявлено 21.06.2021; опубликовано 29.09.2022 / Н.А. Роденко, Р.Ю. Юсупов, А.В. Милехин, В.А. Глущенков, И.А. Беляева, С.Л. Рубцов.

Тезисы конференций:

1. Роденко, Н.А. Исследование изменений в молекуле бензилпенициллина натриевой соли под воздействием импульсного магнитного поля / Н.А. Роденко, А.В. Богданов, Т.И. Васильева Т.И., В.А. Глущенков // XX Международная научно-практическая конференция «Потенциал практических и фундаментальных научных исследований в медицине». – 2023. – С. 104-108.
2. Роденко, Н.А. Исследование изменений в строении молекулы бензилпенициллина натриевой соли под воздействием импульсного магнитного поля и их влияние на биологическую активность препарата / Н.А. Роденко, А.В. Богданов, Т.И. Васильева, В.А. Глущенков // XVIII Международная научная конференция «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2023». – 2023. – С. 103.
3. Rodenko, N.A. Investigation of the biological activity of benzylpenicillin sodium salt under the

influence of pulsed magnetic field / N.A. Rodenko, T.I. Vasilyeva, I.A. Belyaeva, V.A. Glushchenkov, A.V. Samorodov, P.P. Purygin // AIP Conference Proceedings. – 2022. – Vol. 2390 (Scopus).

4. Роденко, Н.А. Влияние импульсного магнитного поля высокой напряженности на изменение антибактериальной активности бета-лактамных антибиотиков / Н.А. Роденко, Т.И. Васильева, В.А. Глущенков, И.А. Беляева // XVII международная научная конференция «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2022». – 2022. – С. 163-164.

5. Роденко, Н.А. Исследование антимикробной активности бета-лактамных антибиотиков после воздействия на них импульсным магнитным полем / Н.А. Роденко, Т.И. Васильева, И.А. Беляева, В.А. Глущенков // II Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы и перспективы фармацевтической науки и практики». – 2022. – С. 341-345.

6. Rodenko, N.A. Increasing the antibacterial activity of benzylpenicillin sodium salt when treatment with a pulsed magnetic field / N.A. Rodenko // LXXII Молодежная научная конференция, посвященная 80-летию КУАИ-СГАУ-Самарского университета, 115-летию со дня рождения академика С.П. Королева. – 2022. – P. 225-226.

7. Винник, Д.А. Влияние импульсного магнитного поля на антибактериальную активность цефтриаксона / Д.А. Винник, Н.А. Роденко, В.А. Глущенков, Т.И. Васильева // Международная молодежная научная конференция, посвященная 60-летию полета в космос Ю.А. Гагарина «XVI Королевские чтения». – 2021. – Т. 2. – С. 588-589.

8. Беляева, И.А. Изучение фармакологической активности лекарственных препаратов после облучения их импульсным магнитным полем / И.А. Беляева, Н.А. Роденко, Т.И. Васильева // VII Международный молодежный научный медицинский форум «Белые цветы». – 2020. – С. 396-397.

9. Роденко, Н.А. Изучение влияния импульсного магнитного поля на структуру молекулы бензилпенициллина натриевой соли методом Фурье-спектроскопии / Н.А. Роденко, В.А. Жукова, Т.И. Васильева, В.С. Блинов // XVIII Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике. – 2020. – С. 332-338.

10. Роденко, Н.А. Исследование биологической активности бензилпенициллина натриевой соли под воздействием импульсного магнитного поля / Н.А. Роденко, Т.И. Васильева, И.А. Беляева, В.А. Глущенков, А.В. Самородов, П.П. Пурыгин // Международная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии». – 2020. – Т. 2. – С. 381-383.

11. Роденко, Н.А. Изучение воздействия импульсного магнитного поля на бензилпенициллина натриевую соль / Н.А. Роденко, И.А. Беляева, Т.И. Васильева // Международная молодежная научная конференция «XV Королевские чтения», посвященная 100-летию со дня рождения Д.И. Козлова. – 2019. – Т. 2. – С. 620-621.

12. Роденко, Н.А. Оценка антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли при воздействии импульсным магнитным полем высокой напряженности / Н.А. Роденко, Т.И. Васильева, А.В. Самородов, И.А. Беляева, В.А. Глущенков // VI Съезд Биофизиков России. – 2019. – Т. 2. – С. 243-244.

13. Роденко, Н.А. Исследование антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли под воздействием электромагнитного поля высокой напряженности / Н.А. Роденко, И.А. Беляева, Т.И. Васильева // Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века». – 2019. – С. 420-421.

14. Роденко, Н.А. Изучение увеличения фармакологической активности лекарственных веществ после облучения их импульсным магнитным полем высокой напряженности / Н.А. Роденко // Всероссийский молодежный научный форум «Наука будущего-наука молодых». – 2020. – Ч. 1. – С. 68-68.

15. Роденко, Н.А. Изучение биологической активности лекарственных препаратов после облучения их импульсным магнитным полем / Н.А. Роденко // XLVI Самарская областная студенческая научная конференция. – 2020. – Ч. 1. – С. 33-34.

16. Роденко, Н.А. Влияние импульсного магнитного поля (ИМП) на антибактериальную активность бензилпенициллина натриевой соли / Н.А. Роденко // XLV- я Самарская областная студенческая научная конференция. – 2019. – Вып. 2019. Ч. 1. – С. 79.