БИОБЕЗОПАСНОСТЬ НАНОПРЕПАРАТОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ И ПТИЦЕВОДСТВЕ

BIOSAFETY OF NANODRUGS USED IN LIVESTOCK AND POULTRY BREEDING

Р.Ф.Капустин*, д.б.н., проф., (ORCID: 0000-0002-4953-7808), М.Б.Тарасов*, Изобретатель СССР, (ORCID: 0000-0003-0980-5908), И.П.Погорельский*, д.мед.н., проф., (ORCID: 0000-0001-6293-7366), В.И.Хачко*, консультант, (ORCID: 0000-0002-0674-8971), С.И.Цыбульников*, председатель совета, (ORCID: 0000-0002-7727-0645) / m-tarasov@list.ru
R.F.Kapustin*, Doct. of Sc. (Biological), Prof., (ORCID: 0000-0002-4953-7808), M.B.Tarasov*, "Inventor of the USSR", (ORCID: 0000-0003-0980-5908), I.P.Pogorelsky*, Doct. of Sc. (Medical), Prof., (ORCID: 0000-0001-6293-7366), V.I.Khachko*, Consultant, (ORCID: 0000-0002-0674-8971), S.I.Tsybulnikov*, Council Chair (ORCID: 0000-0002-7727-0645)

DOI: 10.22184/1993-8578.2020.13.2.150.156

Получено: 03.02.2020 г.

Развивающаяся антибиотикорезистентность, появление супербактерий, устойчивых к ряду антибактериальных средств, вызвали необходимость создания химиотерапевтических средств (ХТС) принципиально нового класса. С применением нанотехнологий созданы рыночные продукты – нанопрепараты М.Б.Тарасова: "Скай-Форс", "Пентациклин", "Рифомаст" и "Эндосупер", обладающие ранее недостижимыми свойствами. Новые свойства вещества, способы получения новых материалов, полученных на основе новых технических решений, определяются уникальными свойствами наночастиц и особенностями операций с ними (нанотехнологиями). Доказано, что для получения сертификата соответствия уникальных препаратов достаточно однозначно со 100%-ной вероятностью идентифицировать конечный продукт. Исследования по применению гистологического контроля продукции свиноводства доказали биобезопасность наноструктурных препаратов. Выявлена эффективность воздействия наноструктурного препарата "Скай-Форс" на возбудителей опасных инфекций (бруцеллеза и африканской чумы свиней – АЧС). Экспериментально доказана уникальность характеристик наноструктурных препаратов, что предполагает дополнительную разработку инструментальных методик выходного контроля качества самих нанопрепаратов. Требования к биобезопасности наноструктурных препаратов необходимо закладывать в техническое задание при разработке наноструктур с заданными физико-химическими и терапевтическими свойствами. Проведенные гистологические исследования готовой продукции животноводства и птицеводства позволяют достоверно контролировать соответствие используемых в терапевтических целях наноструктурных препаратов требованиям биобезопасности. Отсутствие данных по исходным ингредиентам, на основе которых были созданы нанопрепараты, затрудняет сертификацию последних. Показано, что для достоверной сертификации наноструктурных препаратов достаточно инструментальных методов контроля их соответствия эталонным образцам.

The developing antibiotic resistance, the appearance of superbugs resistant to a number of antibacterial agents made it necessary to create chemotherapeutic agents (CTA) of a fundamentally new class. The use of nanotechnologies enabled the creation of market

* Белгородское региональное отделение общественной организации Всероссийской организации изобретателей и рационализаторов / Public Organization of the All-Russian Society of Inventors and Rationalizers, Belgorod Regional Office.

products such as M. Tarasov's nanodrugs: Sky-Force, Pentacycline, Rifomast and Endosuper having previously unattainable properties. New properties of a substance, methods for producing new materials obtained on the basis of new technical solutions are determined by the unique properties of nanoparticles and the peculiarities of handling with them (nanotechnologies). It is proven that in order to obtain a certificate of conformity for unique drugs, it is sufficient to unambiguously identify the final product with a 100% probability. Studies on the application of histological control for pork products have proved the biosafety of nanostructured drugs. The effectiveness of the Sky-Force nanostructured drug with regard to pathogens of dangerous infections (brucellosis and African Swine Fever – ASF) is revealed. The uniqueness of the nanostructured drug properties is experimentally proved, which implies the additional development of instrumental methods for the final quality inspection of the nanodrugs themselves. The biosafety requirements for nanostructured drugs shall be laid down in the technical assignment when developing nanostructures with tailor-made physicochemical and therapeutic properties. The conducted histological studies of the finished livestock and poultry products allow us to reliably inspect the compliance of the nanostructured drugs used for therapeutic purposes with the biosafety requirements. The lack of data on the starting ingredients, on the basis of which the nanodrugs were created, makes certification of the latter difficult. It is shown that for reliable certification of nanostructured drugs, instrumental methods of examining for their compliance with reference samples are sufficient.

ВВЕДЕНИЕ

Развивающаяся антибиотикорезистентность, появление супербактерий, обладающих множественной лекарственной устойчивостью, вызвали необходимость создания принципиально нового класса химиотерапевтических средств (ХТС). С применением нанотехнологий созданы рыночные продукты – нанопрепараты М.Б.Тарасова: "Скай-Форс", "Пентациклин", "Рифомаст" и "Эндосупер", обладающие ранее недостижимыми свойствами. Созданные нанопрепараты не являются антибиотиками, они эффективны в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, вирусов, являются реальной альтернативой антибиотикам в силу своих уникальных физико-химических, терапевтических свойств и могут снизить вероятность возникновения локальных очагов опасных и особо опасных инфекций [1-15]. Нанотехнологии – совокупность операций, преобразующих исходное сырье, представляющее собой материал, в вещество с размером частиц менее 100 нм, с использованием информационных (знания), энергетических (тепло, электроэнергия и т.д.) и материальных ресурсов, в результате чего производятся наноструктурные материалы, полупродукты или продукты, обладающие уникальными характеристиками или свойствами, значительно превышающими по своим параметрам существующие аналоги, или не имеющие мировых аналогов, то есть

бесспорно конкурентоспособные на мировом рынке. Биобезопасность нанопрепаратов обеспечивается не только сокращением в десятки и сотни раз массы активного (действующего) вещества в составе нанопрепаратов, но и целевой доставкой в очаг поражения и селективностью воздействия на патогены (бактерии и вирусы, что исключает токсическое воздействие на организм биообъекта). С целью исключения рисков токсического воздействия нанопродуктов на человека и животных, их необходимо предусмотрительно исключать на этапе разработки нанопрепаратов, создавая наноструктуры с заданными физико-химическими и терапевтическими свойствами, исключаящими токсичность материалов. Существующая нормативно-техническая база недостаточна и фактически закрывает выход таких материалов на рынок нанопрепаратов для медицинского и ветеринарного применения. Нанопрепараты фактически не могут быть сертифицированы в соответствии с действующим законодательством вследствие отсутствия в готовом продукте исходных компонентов.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработаны инструментальные методики достоверной идентификации готового продукта на стадии выходного контроля [5, 7]. Для гистологического исследования отбирали соответствующие фрагменты сельскохозяйственной

Рис.1. Контрольная группа, животное № 6. Серозно-геморрагическая пневмония

Fig.1. Control group, animal. Serosanguineous pneumonia

Рис.2. Контрольная группа, животное № 7.

Геморрагическая пневмония

Fig.2. Control group, animal № 7. Hemorrhagic pneumonia

продукции, фиксировали их в 10%-ном растворе нейтрального формалина, обезживали в изо-пропанол и заливали в парафин. Препараты срезов тканей окрашивали гематоксилином Эрлиха и эозином, исследовали на микроскопе "Микмед-2" (ООО "ЛОМО", Россия) при увеличении в 100–200 раз (анализ результатов выполнен В.И.Хачко, Д.В.Волковым, сотрудником Сибирского ФЦ РАН, М.Б.Тарасовым). Исследования по определению токсичности

и воздействию нанопрепаратов "Скай-Форс" и "Пентациклин" на вирусы АЧС выполнены специалистами ГНУ ВНИИВВиМ (г. Покров, акт от 11 июня 2014 года). В работе использовали биоматериал для гистологических исследований, взятый из готовой продукции двух групп животных (контрольной и опытной, прошедшей лечение препаратом "Скай-Форс"). Для усиления контроля за биобезопасностью готовой продукции предлагается выборочно

Рис.3. Опытная группа, животное № 1. Легкое, бронх

Fig.3. Experienced group, animal № 1. Lung, bronchus

Рис.4. Опытная группа, животное № 1. Легкое, участок легкого без патологических изменений

Fig.4. Experienced group, animal № 1. Lung, lung area without pathological findings

Рис.5. Опытная группа, животное № 2. Легкое, воспалительные изменения и кровоизлияния в единичных альвеолах
Fig.5. Experienced group, animal № 2. Lung, inflammatory changes and haemorrhages in single alveoli

Рис.6. Опытная группа, животное № 2. Легкое, перибронхиальная соединительная ткань, фиброз
Fig.6. Experienced group, animal № 2. Lung, peribronchial connective tissue, fibrosis

осуществлять гистологический контроль качества готовой продукции в крупных агрохолдингах дополнительно к имеющимся методам контроля качества конечной продукции – мяса сельскохозяйственных животных и птиц (рис.1-3). Это усилит позиции отечественных аграриев на мировых рынках и, главное, продовольственную безопасность РФ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Цикл доклинических испытаний "Скай-Форса" в агрохозяйствах инструментальными методами проведен в соответствии с "Руководством по инструментальным методам исследований при разработке и экспертизе качества лекарственных препаратов" (М., 2014), Приказом Министерства сельского хозяйства РФ от 06 марта 2018 года № 101.

В контрольной группе животных (поросята), не получавших препарат, наблюдаются признаки интерстициальной пневмонии. Утолщение межальвеолярных перегородок охватывает большую часть легочной ткани, однако участки, прилегающие к бронхам, оказываются более пораженными. Наблюдается отек стромы, преимущественно по ходу бронхов и крупных вен. Также встречаются тромбозы, как пристеночные, так и полностью перекрывающие просвет кровеносных сосудов (преимущественно вен). Соединительная ткань, прилегающая к бронхам, нередко пропитана кровью. В просвете бронхов часто можно увидеть

кровь, в редких случаях наблюдается наличие десквамированного эпителия. Гиперемия паренхимы легких преимущественно связана с венозным застоем. При развитии воспалительного процесса экссудат преимущественно геморрагический. Инфильтрации гранулоцитами практически не наблюдается, за исключением тромбов на стадии организации. В очагах воспаления преимущественно встречаются лимфоциты, макрофаги (в том числе

Рис.7. Опытная группа, животное № 4. Легкое, участок легкого без патологических изменений
Fig.7. Experienced group, animal № 4. Lung, lung area without pathological findings

Рис.8. Исходные овоидные клетки и их скопления (электронная микроскопия, просвечивающая)

Fig.8. Initial ovoid cells and their clusters (transmission electron microscopy)

Рис.9. 4 ч экспозиции, клетки вздувшиеся, отслойка цитоплазматической мембраны, повышенная электронно-оптическая прозрачность (электронная микроскопия, просвечивающая)

Fig.9. 4 hours of exposure, swollen cells, detachment of the cytoplasmic membrane, enhanced electron-optical transparency (transmission electron microscopy)

отмечается наличие пенистых макрофагов). В двух из препаратов встречались внутрицито-плазматические эозинофильные тельца-включения, представленность которых была больше в очагах поражения (морфологические характеристики телец-включений более характерны для парвовирусной инфекции), факт наличия только двух животных с признаками парвовирусной инфекции позволяет говорить о незначительном вкладе в поражение респираторной системы. У животных обеих групп наблюдаются морфологические изменения в легких, дающие основание для предположения идентичности этиологии и патогенеза патологического процесса. Однотипность и однородность изменений внутри групп также предполагает преимущественно моноэтиологический характер поражений (рис.1, 2).

Группа животных после получения препарата (терапии препаратом "Скай-Форс", опытная группа) (см. рис.3-7). Интенсивность воспалительных изменений в легких существенно менее выражена в сравнении с контрольной группой. Площадь поражений также меньше. Изменения воспалительного характера также затрагивают преимущественно строму, можно увидеть отеки стромы и фиброматоз. Перибронхиальная соединительная ткань часто в состоянии фиброматоза, но без воспалительных инфильтратов. Воспалительных инфильтратов также, как и у животных контрольной группы – практически не наблюдается. Встречаются тромбозы вен (существенно реже), в некоторых случаях вены запустевшие, либо в состоянии облитерации. Участки долек, где наблюдаются изменения вен, часто ателектатичны. Характер изменений свидетельствует о ранее перенесенном воспалительном процессе, аналогичном по этиологии и механизму развития патологии таковому у животных контрольной группы (рис.3-7). Кроме того, выявлена эффективность воздействия нанопрепарата "Скай-Форс" на возбудителей особо опасной инфекции – бруцелл (рис.8-12).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нанотехнологии, применяемые в промышленном производстве нанопрепаратов, являются уникальными. Для получения сертификата соответствия уникальных нанопрепаратов достаточно однозначно со 100%-ной вероятностью идентифицировать конечный продукт. Необходимость раскрытия способа получения нанопродукта

Рис.10. 24 ч экспозиции, клеточный детрит и разрушенные клетки (электронная микроскопия, просвечивающая)
Fig.10. 24 hours of exposure, cell debris and destroyed cells (transmission electron microscopy)

Рис.11. 24 ч экспозиции, клеточный детрит и разрушенные клетки (электронная микроскопия, просвечивающая)
Fig.11. 24 hours of exposure, cell debris and destroyed cells (transmission electron microscopy)

Рис.12. Разрушение бруцелл под действием "Скай-Форс"
Fig.12. The destruction of brucella under the Sky Force

отпадает, так как получить уникальную структуру можно единственным способом. Поэтому правовая охрана интеллектуальной собственности – промышленных нанотехнологий – осуществляется в режиме ноу-хау, имеющем абсолютно те же правовые последствия, что и патент на изобретение. Новые свойства вещества, способы получения новых материалов, новые технологические решения определяются уникальными свойствами наночастиц и особенностями операций с ними (нанотехнологиями). Отсюда возникает необходимость выбора режима правовой защиты полученных технических результатов – патентование или охрана в режиме ноу-хау (ст. 1465–1472 ч. 4 ГК РФ). Кроме того, еще до патентования и опубликования сущности изобретения в открытой печати необходимо провести в соответствии с существующими документами проверку на наличие сведений, составляющих государственную тайну. Порядок патентования секретных разработок регулируется ст. 1401–1405 ч. 4 ГК РФ, Постановлением Правительства РФ № 928 (2007 г.), нормативными документами Минобороны РФ.

ВЫВОДЫ

1. Экспериментально доказана уникальность характеристик нанопрепаратов.
2. Необходимо разработать инструментальные методики выходного контроля качества нанопрепаратов.
3. При разработке наноструктур с заданными физико-химическими и терапевтическими

свойствами требования к биобезопасности нанопрепаратов необходимо закладывать на начальном этапе производства нанопрепаратов.

4. Проведенные гистологические исследования готовой продукции в животноводстве и птицеводстве позволяют достоверно контролировать ее соответствие требованиям биобезопасности.
5. Показано, что для достоверной сертификации нанопрепаратов достаточно инструментальных методов контроля соответствия нанопрепаратов эталонным образцам, поскольку отсутствие исходных ингредиентов в нанопрепаратах затрудняет сам процесс их сертификации.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Тарасов М.Б., Капустин Р.Ф., Погорельский И.П., Цыбульников С.И. Идентификация нанопрепаратов // НАНОИНДУСТРИЯ. 2019. Т. 12. № 7–8. С. 420–423.
2. Туманов А.С., Гурин К.И., Тарасов М.Б. и др. Изучение устойчивости к дезинфицирующим средствам бактерий, обладающих антибиотикорезистентностью // Дезинфекционное дело. 2016. № 2. С. 17–25.
3. Капустин Р.Ф., Старченко Н.Ю. Биохимика, биохимия и молекулярная биология. – Майский: БГСХА, 2011. 271 с.
4. Капустин Р.Ф., Старченко Н.Ю. Высокосульфатированные фракции гликозаминогликанов (ГАГ): фармакологический аспект обоснования оценки // Резервы с.-х. производства. – Майский: БГСХА, 2014. С. 14–15.
5. Капустин Р.Ф. Определение адекватности при оценке результатов гистологических исследований // Лабораторное дело. – Пенза: ПДЗ, 1999. С. 36–40.
6. Капустин Р.Ф., Старченко Н.Ю. Судебная медицина. – Белгород: БГУ, 2015. 220 с.
7. Патент 2560692 РФ, МПК С 2 G01N 33/15 (2006.01), G01N 31/16 (2006.01), G01N 21/31 (2006.01), G01N 27/28 (2006.01). Способ идентификации водорастворимого лекарственного вещества путем сравнения с эталоном / Тарасов М.Б., Погорельский И.П., ... Тарасова О.И. и др. (RU). – № 2013141770/15; заявл. 10.09.2013; опубл. 20.08.2015, Бюл. № 23. 26 с.: ил.
8. Патент 2684902 РФ. МПК A61K 31/65 (2006.01), A61P 31/04 (2006.01). СПК A61K 31/65 (2018.08), A61P 31/04 (2018.08). Способ лечения и профилактики стрептококковой инфекции поросят и свиней, осложненной желудочно-кишечной и респираторными заболеваниями / Тарасов М.Б., Хачко В.И., Капустин Р.Ф. (RU). – № 2018116619; заявл. 07.05.2018; опубл. 16.04.2019, Бюл. № 11. 16 с.
9. Тарасов М.Б., Капустин Р.Ф., Хачко В.И. Гистологическая апробация способа идентификации водорастворимого лекарственного вещества // Морфология. 2018. Т. 153. № 3. С. 268.
10. Тарасов М.Б. Нанопрепараты для животноводства и птицеводства // НАНОИНДУСТРИЯ. 2012. № 4 (34). С. 54–56.
11. Тарасов М.Б. Практический опыт выявления охраноспособных объектов при разработке нанотехнологий, основанных на использовании не известных ранее эффектов и явлений // Юридические аспекты распределения прав на объекты интеллектуальной собственности, полученные за счет Федерального бюджета: докл. участников научно-практич. конф. – Белгород: Федеральное агентство по науке и инновациям. Департамент экономического развития Правительства Белгородской области, 2009.
12. Тарасов М.Б., Погорельский И.П., Дармов И.В. и др. Явление селективности воздействия наноструктурных химиотерапевтических препаратов с перестраиваемой наноструктурой и изменяемой топологией поверхности на возбудителей кишечных инфекций (диплом № 502). Научные открытия. – М.: РАЕН, 2018. С. 16–18.
13. Kapustin R.F., Blokhina I.A., Efimenko A.L. Methodological aspects of the study branch of science histology (as electron microscopy) under the formation of a new technological order // Ital. J. Anat. Embryol. 2016. Vol. 121. № 1 (Suppl.). P. 210.
14. Tarasov M.B., Pogorelsky I.P., Kapustin R.F. et al. Structural analysis as one of morphological evaluation criteria for treatment of intestinal yersiniosis experimentally // Ann. Anat. 2017. Vol. 212. № 1 (Suppl.). P. 104.
15. Tarasov M.B., Vigdorchikov O.V., Kapustin R.F. System evaluation of respiratory disease course in non-clinical studies of the investigational drug pentacycline under consecutive and cross infection // Ун-тская клиника. 2017. Приложение. С. 174.

20–22 октября 2020

Москва, КВЦ «Сокольники»

Единственная
в России выставка
вакуумной техники
и криогенного
оборудования

Вакуумное
оборудование

Криогенное
оборудование

Оборудование
для нанесения
функциональных
покрытий

ПОДРОБНЕЕ О ВЫСТАВКЕ
vacuumtechexpo.com

Организатор

Международная
Выставочная
Компания

+ 7 (495) 252 11 07
vacuumtechexpo@mvk.ru

При поддержке