

## ВЛИЯНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ И ФТАЛАТОВ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ЦЕРКАРИЙ СЕМЕЙСТВА *SCHISTOSOMATIDAE* И СОЗДАНИЕ НА ИХ ОСНОВЕ ЗАЩИТНЫХ СРЕДСТВ ОТ ЦЕРКАРИОЗА

Л.Н. Акимова, Г.Г. Сенькевич, Т.Г. Дунец, В.П. Курченко

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

За последние два десятилетия, в результате антропогенной нагрузки на экосистемы озера Нарочь, образовались благоприятные условия для возникновения устойчивого очага церкариоза. Проблема церкариоза на озере Нарочь обострилась в 80-х годах прошлого столетия [1]. Её исследование было начато в 1994 году после выяснения этиологии заболевания профессором Института паразитологии РАН С.А. Беэром [1,2]. В следующем году под его руководством были опубликованы методические рекомендации по церкариозам в Республике Беларусь [3].

Церкариоз – паразитарное заболевание, вызванное внедрением церкарий (водных личинок трематод) семейства *Schistosomatidae* в кожу человека. Церкариоз согласно Международной статистической классификации болезней классифицируется как церкариальный дерматит [4]. Это заболевание вызывают водные личинки трёх обнаруженных в озере Нарочь видов трематод семейства *Schistosomatidae* – *Trichobilharzia szidati*, *Trichobilharzia franki* и *Bilharziella polonica*.

Случаи церкариозов описаны в странах Западной и Центральной Европы: Великобритании [5], Франции [6], Германии [7,8], Словакии [9], Финляндии [10-12], Нидерландах [14,15], Исландии [16-17], Швеции [18], Италии [19] и др. Это заболевание также отмечается и на других континентах: в Австралии [20,21], Новой Зеландии [22], на островах Тихого океана [23-25], в Южной Америке [26,27], Африке [28], Азии [29-32]. Проблема церкариоза характерна для многих стран, но, не смотря на различные предпринимаемые меры, ликвидировать очаги церкариоза не удаётся. Предлагаемые способы по ликвидации очагов церкариоза: освобождение пляжей от водной растительности, сбор моллюсков с целью их уничтожения, использование моллюскоцидных средств, бетонирование прибрежных участков воды, не привело к ожидаемым результатам. Опыт борьбы с такими очагами в Европе и Америке не позволяет надеяться на его ликвидацию в ближайшие годы.

Наиболее перспективным направлением борьбы с церкариозом является разработка индивидуальных средств защиты людей от внедрения церкарий в кожу человека и предотвращение шистосомного дерматита. Простой способ избежать заражения церкариозным дерматитом – применение защитного крема, предотвращающего проникновение церкарий в кожу. В прошлом уже предпринимались попытки разработать защитные средства, которые бы предотвращали внедрение в кожу личинок трематод *Schistosoma mansoni*, для которых человек является окончательным хозяином. Окончательным хозяином для церкарии *Trichobilharzia sp.* служат водоплавающие птицы, а человек выполняет роль неспецифического хозяина, в коже которого после внедрения они погибают, вызывая церкариальный дерматит. Для борьбы с этим заболеванием разрабатываются лекарственные препараты. Действующим веществом таких средств являлись диметилфталат [33], дибутилфталат [34] и моллюскоцидное средство никлозамид [35,36]. Также могут оказаться полезными в составе защитных средств вещества – ингибиторы ферментов секрета желез проникновения [37,38]. В литературных источниках описаны церкарицидные свойства экстрактов растений, но в основном это относится к представителям тропической флоры [39-48]. Подобные работы ведутся и в нашей стране.

Центральный ботанический сад НАН Беларуси в рамках Государственной программы “Фитопрепараты” проводит работы по исследованию биологически активных веществ флоры нашей республики и возможности их использования в качестве средств защиты от церкариоза [49-50].

Целью наших исследований являлось изучение влияния эфирных масел и эфиров фталевой кислоты на жизнеспособность церкарий семейства *Schistosomatidae* и создание на их основе защитных средств от церкариоза.

### Материалы и методы

Объектом для исследования служили живые личинки трематод семейства *Schistosomatidae* – *Trichobilharzia spp.* Для сравнения действия химических веществ исследования проводились также на личинках трематод неопасных для человека отрядов *Echinostomida*, *Plagiorchiida* и *Strigeida*.

В качестве исследуемых химических веществ использовались различные эфирные масла, диметилфталат и дибутилфталат и их композиции в составе гелей.

Методика исследования влияния химических веществ на жизнеспособность церкарий заключалась в нанесении 5 мкл тестируемого вещества на дно лунки предметного стекла тонким слоем; последующим внесением 150 мкл воды с церкариями. Наблюдение за поведением церкарий проводилось с использованием микроскопа БМ-51-2 (СССР) при увеличении  $\times 8,75$  в течение 20 мин. По данным литературы время внедрения церкарий кожу человека составляет в среднем 4 минуты [51]. Фиксировалось время потери плавательной активности (ППА) и гибели всех церкарий. ППА – состояние церкарии, когда она не может совершать активных плавательных движений.

Исследования компонентного состава эфирных масел проводились на газовом хроматографе Agilent 6850, оснащенном масс-детектором Agilent 5975В. Использовалась капиллярная колонка DB-5MS (сополимер 5%-дифенил-95%-диметилсилоксана) длиной 60м с внутренним диаметром 0,25мм и толщиной пленки неподвижной фазы 0,25мкм. Газ-носитель – гелий.

Программирование температуры термостата:

- начальная температура - 35°C;
- скорость подъема 5°C/мин до 180°C;
- скорость подъема 20°C/мин до 280°C;
- 280°C в течение 10 мин.

Анализировался 1%-ого раствор эфирного масла в гексане. Объем пробы – 1 мкл.

Процентный состав компонентов эфирных масел вычислялся по площадям пиков без использования поправочных коэффициентов. Качественный анализ основан на сравнении масс-спектров компонентов эфирного масла с соответствующими данными библиотеки масс-спектров NIST 0.5a.

### Результаты и обсуждение

#### Исследование влияния эфирных масел на жизнеспособность церкарий.

Эфирные масла – многокомпонентные смеси летучих органических соединений, вырабатываемые растениями и обуславливающие их запах. По химическому строению компоненты эфирных масел относятся к монотерпенам, секвитерпенам, дитерпенам, тритерпенам и их производным, терпеноидам: спиртам, эфирам и альдегидам [52-53]. Применяют эфирные масла в основном в парфюмерно-косметической промышленности. Некоторые масла (мятное, эвкалиптовое, анисовое и др.) используют в медицине. Гвоздичное масло и масло эвгенольного базилика издавна применяют для отпугивания

комаров и москитов. Из фармакологических свойств наиболее характерно для эфирных масел наличие противовоспалительной, антибактериальной, противовирусной и противоглистной активности.

Для поиска масел, обладающих выраженным церкарицидным действием были взяты эфирные масла флоры тропиков (гвоздика, кипарис, эвкалипт, чайное дерево) и отечественные (пихта, кедр, мята, герань, можжевельник).

На рисунке 1 показано время жизнеспособности церкарий *Trichobilharzia sp.* в присутствии этих масел.

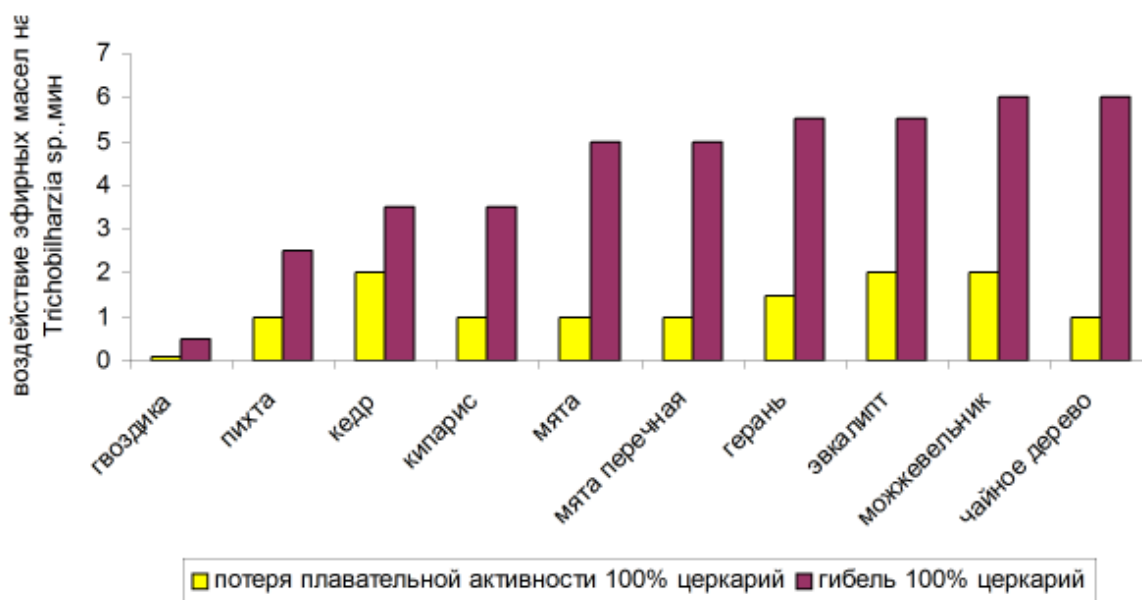


Рисунок 1 – Диаграмма влияния эфирных масел на потерю плавательной активности и гибель церкарий *Trichobilharzia sp.*

Исследованные эфирные масла вызывают потерю плавательной активности 100% церкарий в течение 0,1-2 минут. Гибель всех церкарий наблюдается через значительно большее время и составляет 0,5-6 минут. Показано, что ППА церкарий не коррелирует с показателем их гибели. Эфирные масла, у которых большая разница между показателями времени ППА и гибелью личинок (кипарис, мята, чайное дерево), обладают также выраженным некротизирующим действием на церкарий, приводящим к их быстрому обездвиживанию. Наиболее выраженным церкарицидным действием обладает эфирное масло гвоздики. В присутствии 5% этого масла обездвиживание всех особей происходит сразу, а гибель в течение 30 секунд. Также можно отметить эффективное церкарицидное действие на личинок *Trichobilharzia sp.* эфирных масел некоторых хвойных растений: пихты, кедра, кипариса.

Ниже представлены диаграммы влияния этих эфирных масел на неопасных для человека церкарий из разных отрядов класса *Trematoda* (рис.2).

Из рисунка 1 и 2 видно, что наибольший церкарицидный эффект независимо от видовой принадлежности трематод оказывает эфирное масло гвоздики, которое вызывает гибель церкарий на первой минуте воздействия.

Важно отметить существенные различия жизнеспособности церкарий из разных отрядов в присутствии эфирных масел. Отличие в действии эфирных масел на церкарий может быть связано с видоспецифическими особенностями в восприимчивости к ним,

различиями в размерах и в строении церкарий (наличие или отсутствие цистогенных клеток, наличие или отсутствие слизистой оболочки вокруг тела церкарий и др.).

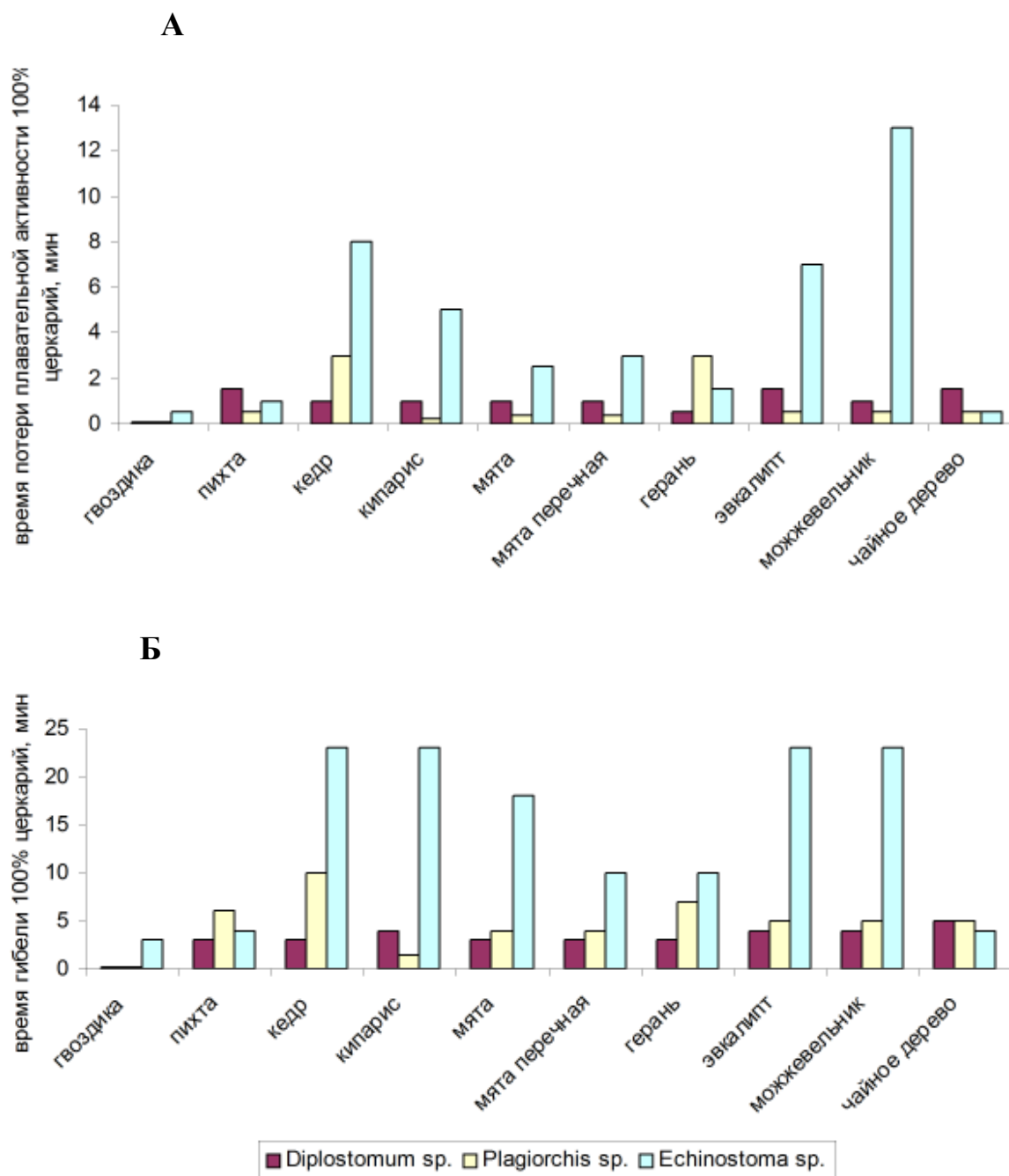


Рисунок 2 – Диаграмма влияния эфирных масел на потерю плавательной активности (А) и гибель церкарий (Б) *Diplostomum sp.*, *Plagiorchis sp.* и *Echinostoma sp.*

Для понимания механизма действия на церкарий необходимо помнить, что эфирные масла представляют собой сложные смеси высокоактивных в биологическом отношении химических веществ. Особенность терпенов и терпеноидов эфирных масел состоит в том, что они легко растворяются в липидах, составляющих основу клеточных мембран. По литературным данным предполагаемый механизм их действия заключается в нарушении осморегуляции [54]. Таким образом, церкарицидное действие эфирных масел может

приводить к нарушению проницаемости биологических мембран и к нарушению поддержания постоянства состава клетки и её физико-химического гомеостаза. Существует три формы абсорбции терпеновых соединений биологической мембраной: - *простая диффузия*, когда за счет своего малого молекулярного веса вещество проникает через мембранные сита клетки по градиенту концентрации (например, монотерпены, кетоны, алкоголи, кумарины, цитокинины); - *активная диффузия* — через липидную фазу клеток, когда фосфолипидные составляющие мембранного комплекса становятся биологическими эмульгаторами ароматических углеводов (простых и сложных эфиров, спиртов); - *транслокация* — способность ароматических веществ создавать временные коалиции (комплексы) с липопротеидами цитоплазматической мембраны; липопротеиды на время становятся переносчиками (транслокаторами) ароматических углеводов, связывая препарат по одну сторону мембраны и высвобождая — по другую. Этот путь характерен для относительно крупных ароматических соединений (полифенолов, бициклических и трициклических алкоголей и т.д.). Компоненты исследованных нами эфирных масел могут абсорбироваться мембраной тела церкарий посредством простой и активной диффузии.

Для выявления компонентов эфирных масел с наибольшим церкарицидным действием был исследован состав масел гвоздики и пихты, обладающих большей церкарицидностью и менее эффективные масла эвкалипта и можжевельника.

Относительное терпеновых соединений и терпеноидов в эфирных маслах представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Состав компонентов эфирных масел

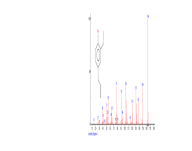
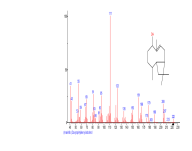

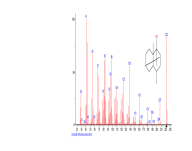
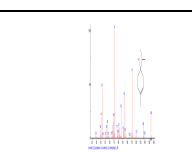
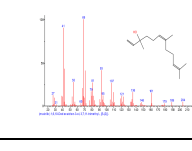
Класс соединений	Относительное содержание в эфирном масле, %			
	гвоздика	пихта	эвкалипт	можжевельник
<b>ТЕРПЕНЫ</b>				
Монотерпены				
Ациклические монотерпены	-	0,55	4,64	2,77
Карбоциклические монотерпены				
<i>Моноциклические</i>	0,03	9,72	29,62	4,85
<i>Бициклические</i>	0,3	53,23	6,07	83,72
<i>Трициклические</i>	-	2,56	-	0,06
<b>Всего монотерпенов</b>	<b>0,33</b>	<b>66,06</b>	<b>40,33</b>	<b>91,4</b>
Секвитерпены				
Ациклические секвитерпены	0,07	-	-	-
Карбоциклические секвитерпены				
<i>Моноциклические</i>	1,94	0,69	-	0,27
<i>Бициклические</i>	10,64	1,11	-	2,68
<i>Трициклические</i>	0,11	0,09	-	2,25
<i>Тетрациклические</i>	-	-	-	0,03
<b>Всего секвитерпенов</b>	<b>12,76</b>	<b>1,89</b>	<b>-</b>	<b>5,23</b>
<b>Всего терпенов</b>	<b>13,09</b>	<b>67,95</b>	<b>40,33</b>	<b>96,63</b>
<b>ТЕРПЕНОИДЫ</b>				
Спирты	<b>84,55</b>	3,8	0,04	1,94
Эфиры	1,49	27,16	59,52	0,41

Кетоны	-	0,29	-	-
Всего терпеноидов	<b>86,04</b>	31,25	<b>59,56</b>	2,35
Другие соединения	0,87	0,8	0,11	1,02

Анализируя состав эфирных масел (табл. 1), можно отметить, что эфирное масло гвоздики с наибольшим церкарицидным действием содержит в своём составе 86,04% терпеноидов. Вместе с тем эфирное масло эвкалипта содержащее терпеноидов 59,56% обладает менее выраженным церкарицидным действием.

Ниже (табл. 2) приводится полный состав относительного содержания спиртов терпеноидов эфирного масла гвоздики.

Таблица 2 – Спирты терпеноидов эфирного масла гвоздики

№ п/п	Соединение	Структурная формула	Относительное содержание (%)
<b>ТЕРПЕНОИДЫ</b>			
<b>Спирты</b>			
1	Эвгенол Phenol, 2-methoxy-4-(2-propenyl)- C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> Молекулярный вес: 164		<b>84,41</b>
2	Кариофилленол 4,8-Methanoazulen-9-ol, decahydro-2,2,4,8-tetramethyl-, stereoisomer C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O Молекулярный вес: 222		0,07
3	Чавикол Phenol, 4-(2-propenyl)- C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O Молекулярный вес: 134		0,03
4	Патчуленол 1,6-Methanonaphthalen-1(2H)-ol, octahydro-4,8a,9,9-tetramethyl-, [1R-(1.alpha.,4.beta.,4a.alpha.,6.beta.,8a.alpha.)]- C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O Молекулярный вес: 222		0,02
5	4-Терпинеол 3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)- C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O Молекулярный вес: 154		0,01
6	d-Неролидол 1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-, [S-(Z)]- C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O Молекулярный вес: 222		0,01

Из таблицы 2 видно, что эвгенол среди спиртов преобладает в процентном относительном содержании – 84,41%, следовательно, церкарицидные свойства можно отнести именно этому соединению.

В дальнейших исследованиях проверялось действие различных концентраций эвгенола на жизнеспособность церкарий. Эвгенол является водонерастворимым веществом,

но хорошо растворим в органических растворителях. Для приготовления его растворов использовали этанол. Чтобы в исследованиях исключить воздействие спирта на церкарий, было определено процентное содержание этанола, не оказывающего влияния на жизнеспособность личинок трематод.

Таблица 3 – Влияние водно-спиртового раствора на жизнеспособность церкарий

концентрация этанола, %	окончательная концентрация этанола после добавления воды с церкариями (1:1), %	гибель 100% церкарий, минуты
48	24	сразу
24	12	1 мин
12	6	1,5-3 мин
6	3	>30 мин

Из таблицы 3 следует, что при 3% концентрации этанола исключается его воздействие на жизнеспособность церкарий, поведение которых не меняется в течение 30 минут.

Ниже приведён график зависимости жизнеспособности церкарий *Trichobilharzia sp.* от степени концентрации эвгенола в 6% этаноле (рис.3).

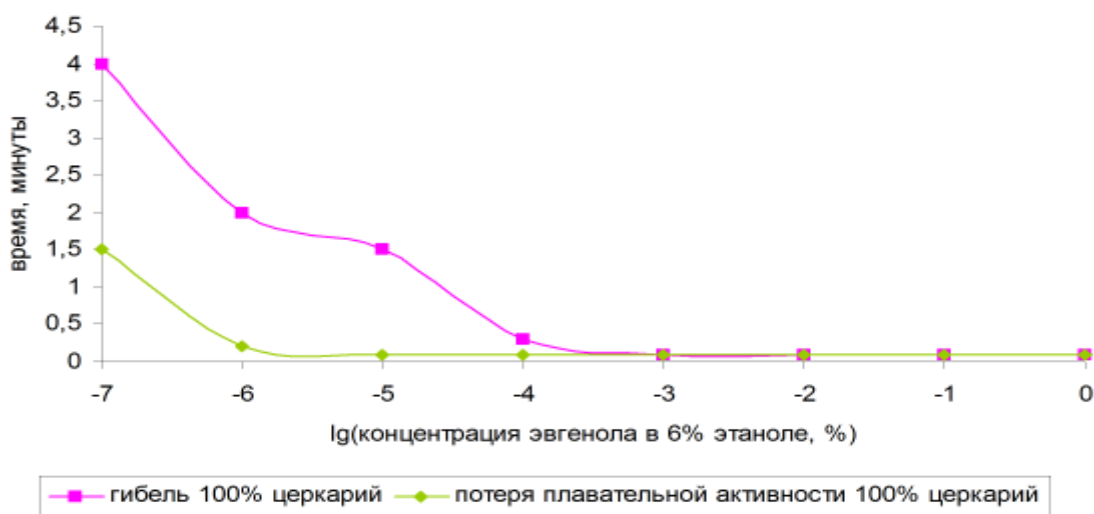


Рисунок 3 – Влияние концентрации эвгенола в 6% этаноле на жизнеспособность церкарий *Trichobilharzia sp.*

Из графика (рис. 3) видно, что эвгенол вызывает почти мгновенную гибель всех церкарий при концентрации выше  $10^{-4}\%$ , а обездвиживание церкарий происходит при концентрациях на два порядка ниже. Следовательно, церкарицидные свойства эфирного масла гвоздики определяются эвгенолом.

Далее стал вопрос, существует ли связь между особенностями строения эвгенола и его церкарицидными свойствами. Для сравнения были взяты кислородзамещённые производные терпеноиды. Использовались гваякол, который отличается отсутствием одного из трёх заместителей – непредельной углеводородной боковой цепи, терпинеол – отличается двумя заместителями, имея одинаковую гидроксильную группу. Также были взяты три вещества,

относящиеся к спиртам терпеноидов – монотерпеноидам: линалоол – ациклическое соединение, а также ментол и тимол – моноциклические соединения. Структурные формулы вышеперечисленных соединений представлены на рисунке 4.

эвгенол      гваякол      тимол      терпинеол      ментол      линалоол

Рисунок 4 – Структурные формулы спиртов терпеноидов

На рисунке 5 представлена результаты влияния различных концентраций исследуемых химических соединений (рис. 4), на жизнеспособность церкарий *Trichobilharzia sp.*

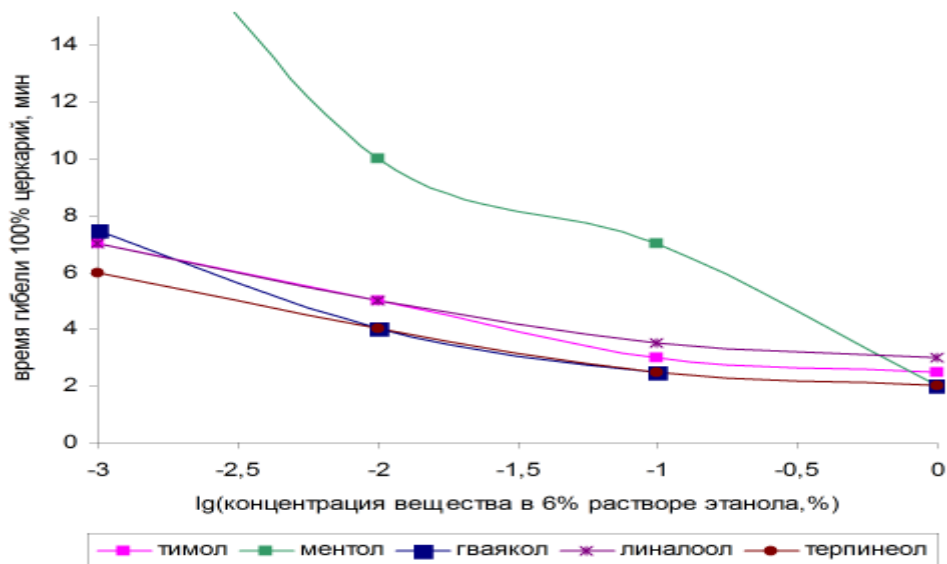


Рисунок 5 – Влияние концентрации спиртов терпеноидов на жизнеспособность церкарий *Trichobilharzia sp.*

Из рисунка 5 видно, что эти вещества оказывают примерно одинаковое действие на церкарий, но заметно уступают эвгенолу по церкарицидности (рис. 4). Из общей картины выпадает только действие ментола, который при низких концентрациях оказывает более слабое влияние на личинок трематод.

Терпеноиды– эвгенол, гваякол и терпинеол можно отнести к группе фенольных соединений, которые в своей основе содержат бензольное кольцо, несущее одну или несколько гидроксильных групп, в том числе замещенных, окисленных до карбоксила. Из литературы известно противомикробное действие фенольных соединений, которое характеризуется неспецифичностью и широким спектром действия. Механизм их бактерицидного действия связывают со способностью сорбироваться компонентами цитоплазматической мембраны, образовывать прочные водородные связи с белками и повреждать мембрану, в частности повышая ее проницаемость для ионов (прежде всего калия) и важных метаболитов. Не исключено, что и в нашем случае имеет место подобный механизм воздействия этих соединений на церкарий. В то же время, исходя из графика (рис.



5), мы видим, что тимол и линалоол по церкарицидности не уступают гваяколу и терпентиолу, хотя не относятся к фенольным соединениям. Вероятно, не бензольное кольцо, но и наличие гидроксильных групп приводят к примерно одинаковым результатам воздействия на жизнеспособность церкарий.

Эвгенол, в отличие от сравниваемых с ним соединений, обладает церкарицидностью при концентрации выше на порядки. Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод, что церкарицидное свойство эвгенола можно отнести к наличию непредельной углеводородной боковой цепи (рис. 4, выделено штриховой линией), так как концентрация гваякола, имеющего ту же структурную формулу, но без углеводородного бокового заместителя, приводящая к гибели *Trichobilharzia sp.*, отличается на шесть порядков. Не исключено, что углеводородная цепь эвгенола в силу своей гидрофобности, встраивается в гидрофобную часть липидного слоя мембраны церкарии, приводя к нарушениям её функций и быстрой гибели личинок трематод.

Выяснив наличие выраженного церкарицидного действия эфирного масла гвоздики и его основного компонента – эвгенола, были сделаны варианты гелей с разными концентрациями этих веществ для определения их оптимальной концентрации, приводящей к гибели церкарий *Trichobilharzia sp.* Исследование влияния концентраций эфирного масла гвоздики и эвгенола в составе гелей на жизнеспособность личинок трематод *Trichobilharzia sp.* представлено на рисунке 6.

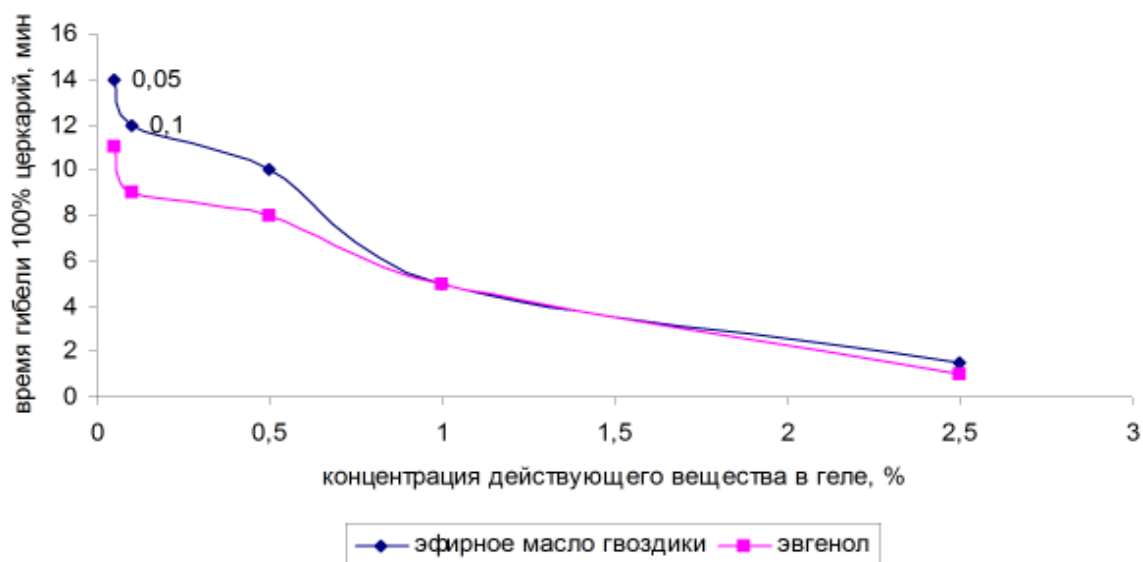
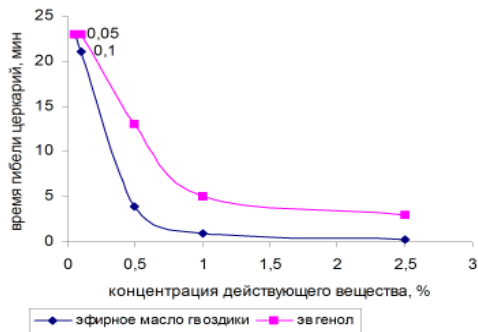


Рисунок 6 – Влияние концентрации эфирного масла гвоздики и эвгенола на жизнеспособность церкарий *Trichobilharzia sp.*

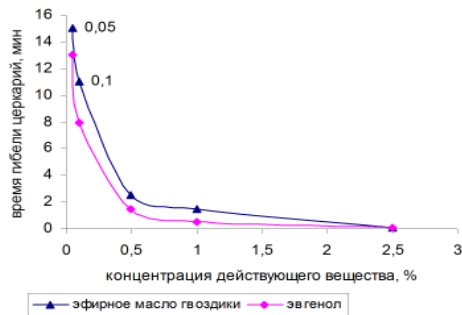
Из графика (рис. 6) видно, что при низких концентрациях (0,05% – 0,5%) действие эвгенола в составе геля немного эффективнее, чем гвоздичного масла. Хотя при концентрации 1% и выше их влияние на жизнеспособность церкарий практически не отличается. Таким образом, можно рекомендовать для окончательного рецепта защитного геля концентрации эвгенола или гвоздичного масла не ниже 1%.

Исследование воздействия концентраций эвгенола и эфирного масла гвоздики в составе гелей также было проведено на личинках трематод, не вызывающих церкариоз у людей. Зависимости времени гибели церкарий от их концентрации в геле представлены на рисунке 7.

**А**



**Б**



**В**

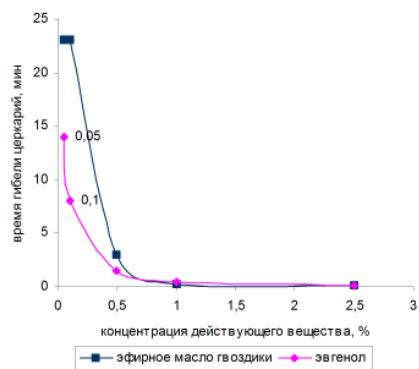


Рисунок 7 – Зависимость жизнеспособности церкарий *Plagiorchis sp.* (А), *Diplostomum sp.* (Б) и *Echinostoma sp.* (В) от концентрации эфирного масла гвоздики и эвгенола в составе геля

Анализируя графики на рисунках 6-7, видно, что использование эвгенола в составе геля приводит к более быстрой гибели церкарий, чем при использовании эфирного масла гвоздики. При 1% концентрации действующих веществ в составе геля в течение 5 минут наблюдается гибель 100% церкарий независимо от их видовой принадлежности.

При воздействии гелей из общей картины выпадает реакция церкарий *Plagiorchis sp.* (см. рис. 7А), на которых действие геля с эвгенолом ниже, чем действие геля с маслом гвоздики. Объясняется это, скорее всего тем, что поверхность тела церкарии этого вида покрыта тонким слоем слизи (полисахаридной природы), выделяемой специальными секреторными клетками, а в момент изменения внешних условий церкария выделяет содержимое цистогенных клеток, покрываясь толстой оболочкой (цистой) (рис. 8).



Рисунок 8 – Слизистый слой вокруг тела церкарии *Plagiorchis sp.* при образовании цисты (общее увеличение объектива x400, окрашивание трипановым синим)

Эвгенол как бы “застревает” в этом продуцируемом церкарией слое и не взаимодействует непосредственно с поверхностью тела церкарии (тегументом). Эфирное масло гвоздики в составе геля довольно быстро приводит к гибели церкарий этого вида. Скорее всего, некоторые компоненты эфирного масла гвоздики (но не эвгенол) способствуют разрушению этого слизистого слоя.

Обобщая всё вышесказанное, в окончательный вариант геля из эфирных масел и их компонентов было решено взять эвгенол, как соединение, наиболее быстро приводящее к гибели церкарий *Trichobilharzia sp.*

Необходимо помнить, что концентрации эфирного масла и его основного компонента – эвгенола – в разрабатываемых защитных гелях должны находиться в допустимых к использованию безопасных пределах (не выше 25%, обычно 5-10%), что не влечёт появления нежелательных результатов после нанесения геля на кожу человека.

### Исследование влияния воздействия фталатов на жизнеспособность церкарий.

Диметилфталат (ДМФ) и дибутилфталат (ДБФ) давно нашли применение в многочисленных отраслях промышленности, включая производство красителей и косметики. Диметилфталат является основой для красителей и смягчителей в спреях для волос. Дибутилфталат полезен как средство от насекомых для пропитки одежды. Он используется в качестве растворителя для парфюмерных масел.

Нас заинтересовало наличие у ДМФ и ДБФ репеллентных свойств, выражающееся в отпугивании кровососущих членистоногих – комаров, клещей, слепней, мошек и др. [55-58]. Структурные формулы ДМФ и ДБФ представлены на рисунке 9.

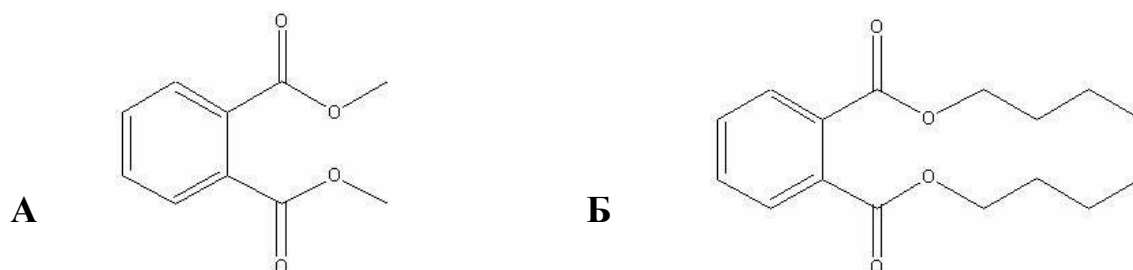


Рисунок 9 – Структурные формулы диметилфталата (А) и дибутилфталата (Б)

Ещё в 1949 году проводились исследования инсектицида диметилфталата [33] и дибутилфталата [34] в качестве церкарицидных средств. Было отмечено, что они замедляют проникновение церкарий рода *Schistosoma* в кожу.

Ниже представлены зависимости гибели церкарий от концентрации ДМФ и ДБФ в составе геля (рис. 10-11).

На рисунке 10 видно, что влияние ДМФ и ДБФ на жизнеспособность церкарий отличается. ДБФ при концентрациях выше 5% быстрее приводит к гибели церкарий *Trichobilharzia sp.*, чем ДМФ. Если учесть, что обездвиживание личинок происходит за более короткий промежуток времени, то нет необходимости увеличивать концентрацию ДБФ в защитных гелях выше 5%.

На рисунке 11 представлены зависимости гибели неопасных для человека церкарий от концентрации ДМФ и ДБФ в составе геля.

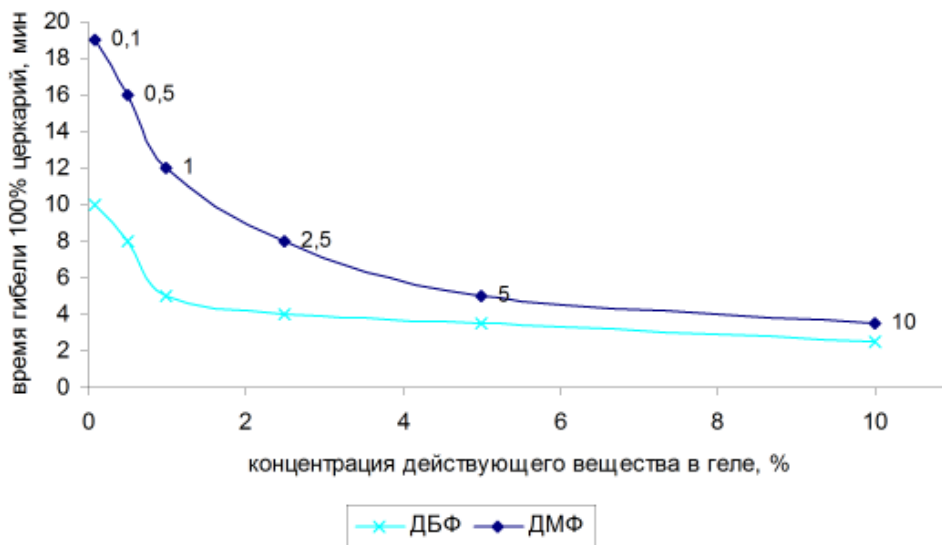
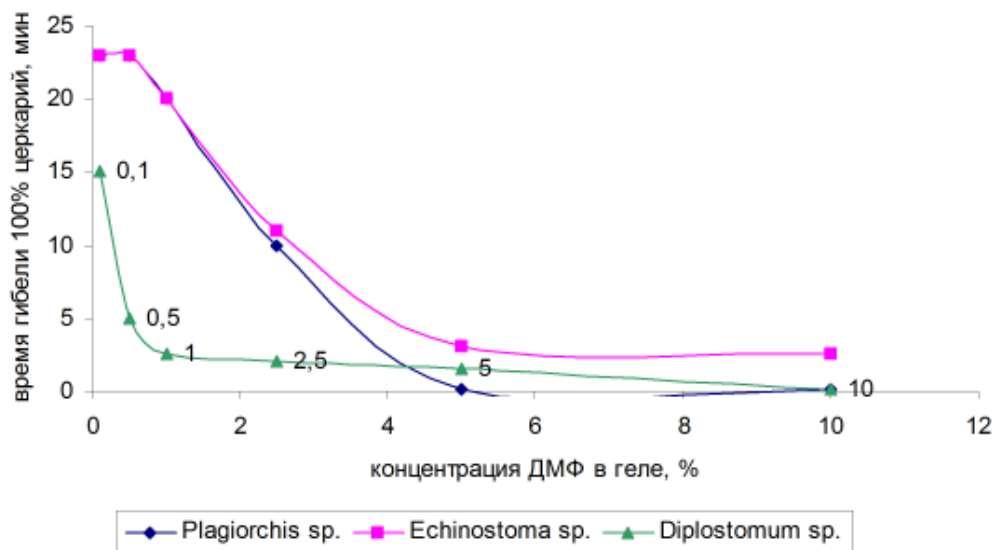


Рисунок 10 – Зависимость гибели церкарий *Trichobilharzia sp.* от концентрации фталата в геле

А



## Б

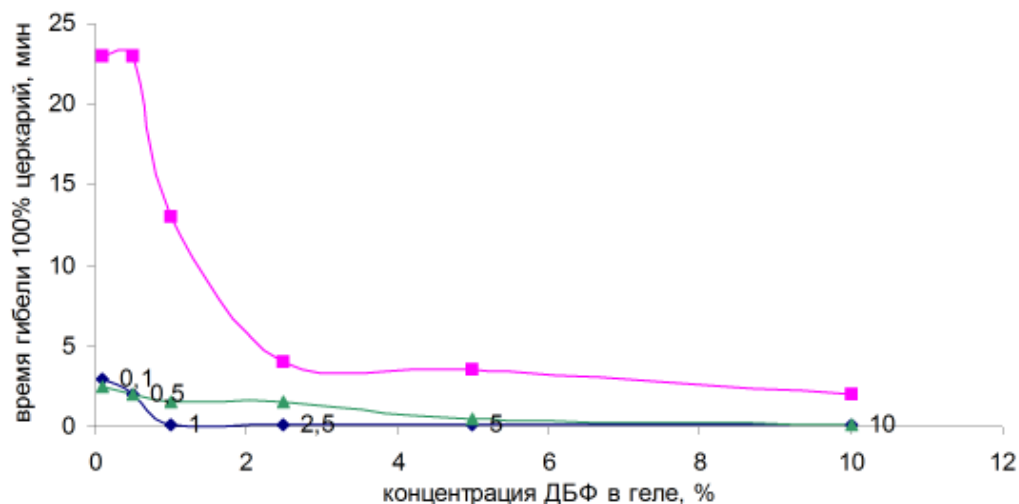


Рисунок 11 – Зависимость гибели церкарий от концентрации ДБФ в геле

Из рисунка 11, можно сделать вывод, что независимо от видовой принадлежности церкарий трематод, действие ДБФ эффективнее, чем ДМФ. Особенно велика разница времени гибели церкарий *Plagiorchis sp.* при использовании геля с ДБФ. Скорее всего, это объясняется наличием слизистого слоя, покрывающего тело церкарии, о котором уже упоминалось выше (рис. 8).

Несмотря на широкое применение, фталаты относятся ко второму классу опасности химических веществ. Из литературы известно, что симптомы токсичного воздействия фталатов очень слабы и обычно уменьшаются с увеличением молекулярной массы. Существует взаимосвязь между метаболизмом и токсичностью фталатов. Фталаты с короткой спиртовой цепочкой, обладающие высокой токсичностью, фактически очень быстро расщепляются на сложные моноэфиры. Исходя из этого, предпочтительнее использовать в индивидуальных защитных средствах ДБФ. Если учесть, что процентное содержание ДМФ и ДБФ в репеллентных препаратах, находящихся в продаже, доходит до 30-40%, то, исходя из результатов наших исследований, предлагаемая нами концентрация ДБФ может составить 6 %.

### **Этилендиаминтетраацетат – компонент защитных гелей, как ингибитор церкариальных протеаз.**

Ещё в 90-х годах прошлого столетия появились статьи, в которых высказывалось мнение, что в качестве компонентов защитных средств могут использоваться вещества, которые препятствуют действию церкариальных протеаз [37,38].

Активное внедрение церкарий в тело хозяина является обязательной частью жизненного цикла многих видов трематод. Внедряющиеся личинки используют специфический секрет, который способствует разрушению эпителия хозяина и подлежащих

тканей. Секрет продуцируется особыми клетками, так называемыми железами внедрения [60]. Их расположение хорошо известно у церкарий семейства *Schistosomatidae*. Они состоят из пяти пар больших секреторных клеток, расположенных в двух группах: 2 пары преацетабулярных или циркумацетабулярных и 3 пары постацетабулярных желез внедрения [61-63]. В экспериментах *in vitro*, липиды поверхности человеческой кожи стимулируют высвобождение секрета преимущественно циркумацетабулярных желез у *Trichobilharzia ocellata*, отмечается похожий ответ на жирные кислоты и в случае с *Schistosoma mansoni* [64-67].

Скрининг библиотеки кДНК трематоды *Schistosoma mansoni* показал, что её геном содержит ген, кодирующий 86,9 кДа белок, состоящий из 768 аминокислотных остатков [68]. Этот белок однозначно идентифицирован как член семейства кальпаинов. В кальпаине *S. mansoni* присутствуют последовательности, способные связывать  $\text{Ca}^{2+}$ . Позднее удалось выделить  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимую протеазу из *S. mansoni* [69] и других видов рода *Schistosoma* [70]. Оказалось, что нативный кальпаин *S. mansoni* состоит из двух субъединиц 78 и 28 кДа [68]. Кальпаины являются  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимыми цистеиновыми протеазами, состоящим из большой и малой субъединиц с массами близкими к 80 и 28 кДа, соответственно. Структура фермента в отсутствие  $\text{Ca}^{2+}$  показывает, что фермент каталитически неактивен [68]. Bahgat and Ruppel [71] сообщили о сходстве эластазы *Schistosoma mansoni* и сериновой протеазы из *Trichobilharzia ocellata*. Их физико-химические свойства похожи, оба размером примерно 28 кДа в зимографическом геле. Таким образом  $\text{Ca}^{2+}$  играет роль регулятора активности протеазы в железах и разрушении протеогликанов кожи хозяина [72-76]. В статье L. Mikeš at al. [77] описан тест на протеолитическую активность секрета желез внедрения *Trichobilharzia szidati*. Проведенный авторами анализ показал, что преацетабулярные железы содержат значительное количество кальция. В статье отмечено, что в секреторно-эксcretорных продуктах желез присутствует множество протеолитических ферментов, активность которых зависима от кальция. Это подтверждается полным ингибированием протеолитической активности в образцах высокими концентрациями этилендиаминтетраацетата (ЭДТА).

В связи с выше сказанным в состав защитных гелей добавили ЭДТА. ЭДТА – четырехосновная кислота (рис. 12А), важнейший представитель комплексонов, образующих прочные внутрикомплексные соединения (хелаты) с ионами металлов (рис. 12Б).

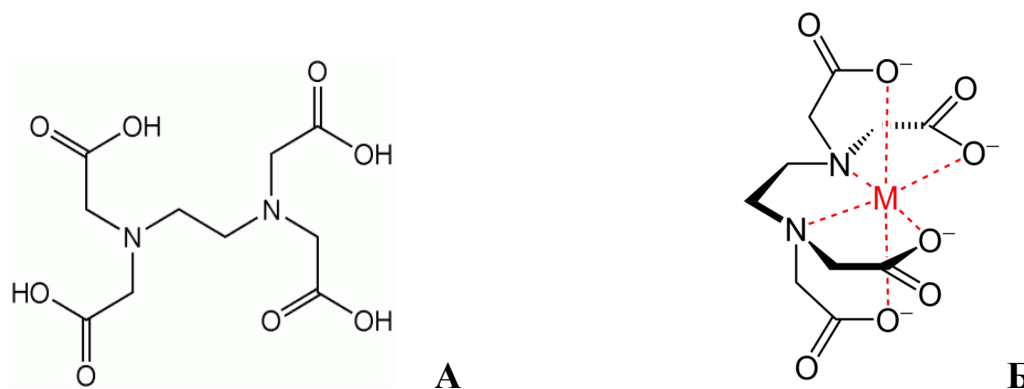


Рисунок 12 – Структурные формулы: А – этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА),  
Б – хелата “металл-ЭДТА”

Из структурной формулы хелата “металл-ЭДТА” видно, что молекула ЭДТА содержит 4 кислотных и 2 основных центра. Геометрия лиганда такова, что с одним атомом металла он может образовывать не более шести связей: две с атомами азота и четыре с атомами

кислорода разных ацетатных фрагментов ЭДТА (рис. 12Б). Удачное сочетание и взаимное расположение этих центров сделало ЭДТА одним из наиболее эффективных универсальных комплексонов, нашедших широкое и разнообразное применение [78]. Взаимодействие ЭДТА с катионами главной подгруппы второй группы Периодической системы приводит к образованию весьма устойчивых и хорошо растворимых в воде комплексов [78]. Нормальные комплексоны этих элементов образуются в водных растворах в широком диапазоне рН: от 4 до 12. Отличительной чертой молекулы ЭДТА как лиганда является также ее высокая гибкость и широкое варьирование межатомных расстояний М-О и М-N в комплексах различных металлов, что снимает многие геометрические ограничения и обеспечивает достаточную универсальность действия комплексона. Пространственная структура соединения такова, что дентатность не может быть выше шести - в координации могут участвовать два атома азота и четыре "карбокислых" атома кислорода. При этом образуются пять пятичленных металлоциклов, что приводит к исключительно высокой устойчивости комплексонов.

В Европейском Союзе в течение многих лет проводились исследования, целью которых была оценка степени риска, связанного с использованием ЭДТА. По результатам этих исследований был сделан вывод о том, что ЭДТА не представляет для окружающей среды абсолютно никакой угрозы. Кроме того, это вещество безопасно для людей и животных. Поэтому продукты ЭДТА в Европе не имеют соответствующих предупреждающих этикеток. Следовательно, использование ЭДТА в составе защитного геля безопасно для человека.

#### **Использование гелевой основы для защитных средств.**

Изначально действующие вещества и эфирные масла помещались не только в гелевую основу, но и в кремовую. Исследования показали, что при одинаковой концентрации химических веществ в составе геля и крема, действие геля заметно быстрее вызывало гибель церкарий, из чего следует, что активные компоненты в составе гелей легче "высвобождаются".

Технологическая схема получения геля приводится на рисунке 13.



Рисунок 13 – Технологическая схема получения гелей с церкарицидными компонентами

Гели получали путем суспендирования в воде порошка полимера (карбопол 980 NF) и добавлением очень небольшого количества, по сравнению с объемом воды, нейтрализующего агента (гидроксида натрия).

Карбопол, используемый при изготовлении основы геля (см. рис. 13), – это целая группа соединений, которые представляют собой карбоксиакриловые или карбоксивиниловые полимеры [79]. Его получают синтетическим путем. В фармации карбопол играет роль гелеобразователя. Он является основой для гелей и кремов-гелей, так как хорошо растворяется в воде, легко смешивается с любыми активными ингредиентами. Карбопол имеет ряд достоинств: в течение всего срока годности гель с карбополом не расслаивается, не высыхает, не комкуется, не меняет цвет. Благодаря ему же гели не создают на поверхности кожи липкой пленки и умеют хорошо смягчать и увлажнять кожу [80]. К другим достоинствам карбопола можно также отнести:

- термическую и микробиологическую устойчивость;
- стабильность и химическую стойкость при хранении;
- совместимость со многими лекарственными веществами;
- гипоаллергенность; тиксотропность, облегчающая их экстракцию из туб;
- легкость нанесения и удаления с поверхности кожи;
- высокая абсорбция лекарственных веществ.

По сравнению с кремами, гели являются крайне перспективной лекарственной формой, так как имеют рН близкий к рН кожи, быстро изготавливаются, не закупоривают поры кожи, быстро и равномерно распределяются.

#### **Исследование влияния гелей на жизнеспособность церкарий.**

На основании всего выше изложенного для окончательных вариантов гелей с церкарицидными свойствами были выбраны следующие компоненты: ЭДТА, эвгенол, ДМФ и ДБФ.

Вышеперечисленные компоненты в разных комбинациях использовали в 5 вариантах изготовленных опытных партиях гелей:

1. ЭДТА + эвгенол;
2. ЭДТА + ДБФ;
3. ЭДТА + эвгенол + ДМФ;
4. ЭДТА + эвгенол + ДБФ;
5. ЭДТА + ДМФ.

Действие этих гелей на жизнеспособность церкарий *Trichobilharzia sp.* представлено на рисунке 14.



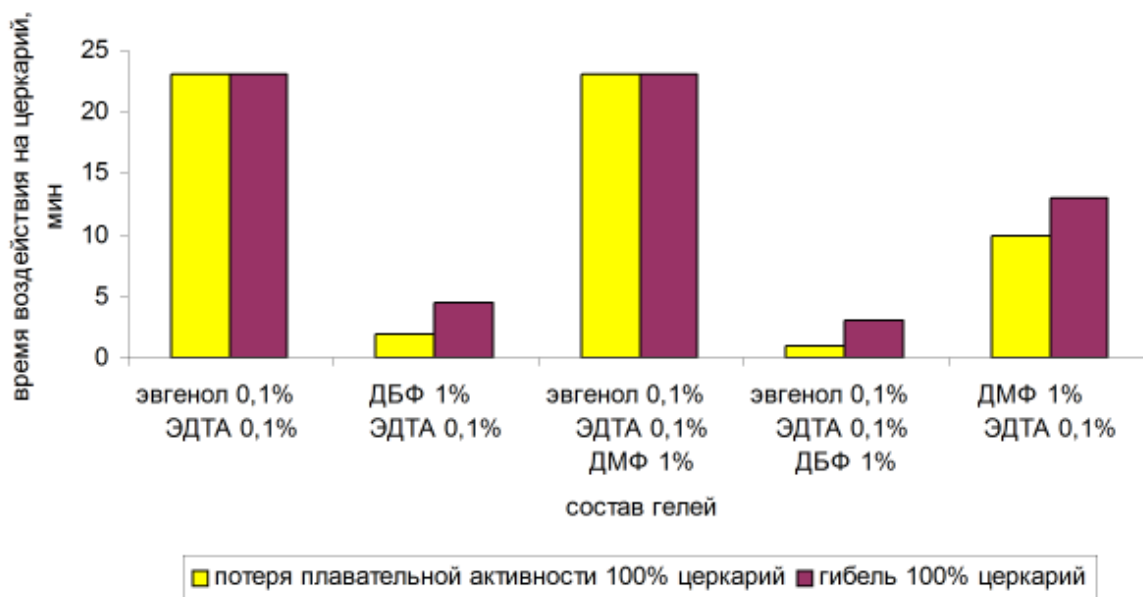


Рисунок 14 – Диаграмма влияния защитных гелей на жизнеспособность церкарий *Trichobilharzia sp.*

Из рисунка 14 видно, что из пяти комбинаций действующих веществ, наиболее эффективными оказались только два варианта ЭДТА+ДБФ и ЭДТА+ДБФ+эвгенол, обездвиживающие церкарий в течение нескольких минут и приводящие к их гибели в течение 5 минут. Действие ЭДТА на жизнеспособность личинок трематод можно исключить, так как этот компонент добавлялся только в качестве ингибитора протеаз секрета желез внедрения. Таким образом, по церкарицидности гелей можно отметить, что из эфиров фталевой кислоты предпочтительно использовать ДБФ. Наличие в защитном геле в качестве действующего вещества одного эвгенола не приводит к быстрой гибели церкарий, а наличие в защитном геле сочетания эвгенола и ДМФ, даёт такой же результат по церкарицидности, как и присутствие одного эвгенола в составе геля.

Относительно двух наиболее эффективных вариантов защитных гелей хочется отметить, что наличие эвгенола в присутствии ЭДТА и ДБФ несколько усиливает церкарицидное действие геля. Здесь можно говорить о сочетанном церкарицидном действии соединений в составе геля.

Таким образом, проведённые исследования позволили создать эффективные средства защиты кожи человека от церкариоза на основе гелей содержащих эвгенол, ДБФ и ДМФ.

### Литература

1. Жукова Т.В., Бычкова Е.И., Дороженкова Т.Е., Люштык В.С. Церкариоз в Нарочанском курортном регионе: история исследований. // Материалы семинара, проведённого государственным природоохранным учреждением «Национальный парк «Нарочанский» на базе Учебно-научного центра «Нарочанская биологическая станция им. Г.Г. Винберга» БГУ. 1-2 ноября 2006 года / под ред. Т.В. Жуковой, В.С. Люштыка. – Минск: Медисонт, 2007. – 220с.
2. Воронин М.В. Церкариозы и борьба с ними в разных странах мира. // Материалы семинара, проведённого государственным природоохранным учреждением «Национальный парк «Нарочанский» на базе Учебно-научного центра «Нарочанская биологическая станция им. Г.Г. Винберга» БГУ. 1-2 ноября 2006 года. / под ред. Т.В. Жуковой, В.С. Люштыка. – Минск: Медисонт, 2007. – 220с.

3. Беэр С.А., Колосовский Б.С., Солонец Т.М., Герман С.М., Дороженкова Т.Е., Чистенко Г.Н., Веденьков А.Л., Шалапёнок Е.С. Методические рекомендации по диагностике, медико-экологической экспертизе и профилактике церкариозов. // МЗ Республики Беларусь. Минск, 1995. – 13с.
4. Жукова Т.В., Остапеня А.П. Введение в проблему. // Материалы семинара, проведённого государственным природоохранным учреждением «Национальный парк «Нарочанский» на базе Учебно-научного центра «Нарочанская биологическая станция им. Г.Г. Винберга» БГУ. 1-2 ноября 2006 года / под ред. Т.В. Жуковой, В.С. Люштыка. – Минск: Медисонт, 2007. – 220с.].
5. Taylor E.L., Baylis H.A. Observations and experiments on a dermatitis-producing cercaria and on another cercaria from *Limnaea stagnate* in Great Britain // Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 1930, 24, pp. 219-244.
6. Brumpt E. Cercaria ocellata determinant la dermatite des na-geurs provient d une bilharzie des canards // Complex Rendus Hebdomadaires des Seances de VAcademic des Sciences Paris 1931, v. 193, pp. 612-614.
7. Vogel H. Cercarien-dermatitis in Deutchland // Klinische Wochen- schrift, 1930, 9: pp. 883-886.
8. Szidat L. Was ist Cercaria ocellata La Valette? Morphologische und entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen uber den Erreger der europaischen Cercaren-Dermatitis des Menschen II Dtsch. Tropmed. Zeitsch., 1942,46: pp. 481-497, 504-524.
9. Macko J.K. Flat worms and their importance in common free-living birds in eastern Slovakia // Sbor. Vych. - slov. muz. 1961— 1962,11-111: pp. 129-154.
10. Pirila V., Wikgren Bo-J. Jarvisyyhysta // Duodecim 1955, 71 № 12, pp. 1198-1211.
11. Pirila V., Wikgren Bo-J. Cases of Swimmer's Itch in Finland // Acta Derm. — Vener., 1957, Vol. 37, pp. 140-148.
12. Dubois J.-R, Buet A., Cusin I., Deloraine A., Gerdil S., Hedre- J ville L., Maurin, G. Epidemiological studies related to cercarial dermatitis in lakes of the Savoy District (France) //Helminthologia 2001, 38, 4.
13. SilanR, Dubois J.P., Halpenny C. Contribution to the study of the cercarial dermatitis in the Alpes area (France) // Helminthologia, 2001, 38.
14. Bonsel J., Stam A.B., Stam-Mielziner S.J, van Thiel P.H. Schistosoma Dermatitis in the Hague// Trop. Geogr. Med. 1958, Vol. 10, pp. 239-244.
15. Sluiters, J.F. Swimmer's itch as an emerging disease in The Netherlands // IX European ulticolloquium of parasitology. Programme and abstracts. Workshop No. 11. Edited by S.Mas-Coma, M.D. Bargues, J.G. Esteban and Valero M.A.. Valencia, Spain. 2004, p. 512.
16. Skirnisson K., Kolafova L. On Schistosoma research in Iceland // Helminthologia, 2001.
17. Skirnisson K., Kolarova L. On Trichobilharzia research in Iceland // IX European Multicolloquium of parasitology. Programme 1. Workshop No 11. Edited by S.Mas-Coma, M.D. Bargues, J.G. Esteban and M.A. Valero. Valencia, Spain. 2004, 514.
18. Thors C., Binder E. Swimmers' itch in Sweden // Helminthologia, 2001, 38, 4: p. 244.
19. Canestri-Trotti G., Fioravanti M.L., Pampiglione S. Cercarial dermatitis in Italy // Helminthologia, 2001, 38.
20. Bearup A.J. A Schistosome Larva from the Marine Snail *Pyra-zus Australis* as a Cause of Cercarial Dermatitis in Man // Med. J. Australia, 1955, p. 955.
21. MacFarlane W.V. Schistosome Dermatitis in Australia // The Med. Journ. of Austr. 1952, Vol. I (20) May, pp. 669-672.
22. MacFarlane W.V. Schistosome dermatitis in New Zealand. Part I. The Parasite // American Journal of Hygiene 1949, 50, pp. 143-151.

23. Chu G.W. T.C., Cutress C.E. *Austroilharzia variglandis* (Miller and Northup, 1926) Penner, 1953, (Trematoda: Schistosomatidae) in Hawaii with Notes on Its Biology // Journ. of Paras., 1954, Vol. 40, №5 Seel, pp. 515-523.
24. Chu G.W.T.C. Pacific Area Distribution of Freshwater and Marine Cercarial Dermatitis // Rep. Pac. Sci. 1958, 12 (4), pp. 299-312.
25. Chu G.W.T.C. The problem of swimmer's Itch in Hawaii II Arm. Meet, of Hawaii // Pub. Hlth. Assc. 1959, p. 56-67.
26. McMullen D.B., Brackett S. Studies on schistosome dermatitis. Distribution and epidemiology in Michigan // Am. Journ. Hygiene, 1948, 50 (3) pp. 259-270.
27. Szidat L., Czibulinski de Szidat U. Eine Neue, Dermatitis Erzeugende Cercarie der Trematoden-familie Schistosomatidae aus *Tropicorbis Peregrinus* (d'Orbigny) des Rio Quequen // Z. fur Parasitenkunde 1960, 20, 359-367.
28. Fain A. Sur une furcocercaire du group Ocellata produisant experimentalement la dermatite des nageurs a Astrida (Ruanda-Urundi) // Annates de la Societe beige de Medecine tropicale 1955, 35, pp. 701-707.
29. Matsumura T. et al. Avian Schistosomiasis (Paddy Field Dermatitis) in a Rural City of Hyogo Prefecture, Japan — Seasonal Emergence of *Gigantobilharzia Sturnia* Cercaria from an Intermediate Host Snail, *Poppylis Hemisphaerula* // Kobe J. Med. Sci. 1984, 30 (1-2), April, pp. 17-23.
30. Pao T. C, Yung Y. L. The discovery of an avian schistosome *Pseudobilharziella* sp (Family Schistosomatidae Subfamily Bilharziellmae) in Chung-Chng, Szechwan Province China // Acta Zoologica Sinica 1957, 9, pp. 291-297 (In Chinese, English summary p. 296).
31. Athari A., Amini H., Sahba G. H., Jalali H., Farrokni K. Investigation of cercarial dermatitis in Iran // Bull. soc. fr. parasitol., 1990, 8, Suppl. 2, p. 888.
32. Sahba G. H., Amini H., Jalali H., Jafariyan S., Noor-Jah H., Soh-rabi M. First report of *Trichobilharzia* species in ducks and widespread cercarial dermatitis among inhabitants of the Caspian Sea area in Iran // Bull. soc. fr. parasitol, 1990, 8, Suppl. 1, pp. 301.
33. MacFarlane W.V. (1949) Schistosome dermatitis in New Zealand. II. Pathology and immunology of cercarial lesions. *Am J Hyg* 50:152-167
34. Yang K.L., Tchou T.K., T'ang CC, Ho TK, Luo HC (1965) A study on dermatitis in rice farmers. *Chin Med J* 84:143-159
35. Cherfas J. (1989) New weapon in the war against schistosomiasis. *Science* 246:1242-1243
36. Abu-Elyazeed R.R., Podgore J.K., Mansour N.S., Kilpatrick M.E. (1993) Field trial of 1% niclosamide as a topical antipenetrant to *Schistosoma mansoni* cercariae. *Am J Trop Med Hyg* 49: 403-409
37. Cohen F.E., Gregoret L.M., Amiri P., Aldape K., Railey J., McKerrow J.H. (1991) Arresting tissue invasion of a parasite by protease inhibitors chosen with the aid of computer modelling. *Biochemistry* 30:11221-11229
38. Lim K.C., Sun E., Bahgat M., Bucks D., Guy R., Hinz R.S., Cullander C., McKerrow J.H. (1999) Blockage of skin invasion by schistosome cercariae by serine protease inhibitors. *Am J Trop Med Hyg* 60:487-492
39. Lahlou M. Potencial of *Organum compactum* as a cercaricide in Morocco // *Ann Trop Med Parasitol.* 2002. Vol. 96 (6). P.587-593
40. Sabino K.C., Gayer C.R., Vaz L.C. In vitro and in vivo toxicological study of the *Pterodon pubescens* seed oil // *Environ Mol Mutagen.* 1995. Vol. 26 (4). P. 338-344
41. Kady M.M., Brimer L., Furu P. The molluscidal activity of coumarins from *Ethulia conysoides* and dicumarol // *J Egypt Soc Parasitol.* 2004. Vol. 34 (3). P. 1041-1050
42. Cercaricidal activity of some essential oils of plants from Brazil // *Naturwissenschaften.* 1978. Vol. 65(9). P. 480-483
43. Naples J.M., Shiff C, Halden R.U. Reduction of infectivity of schistosome cercariae by application of cercaricidal oil to water // *Am J Trop Med Hyg.* 2005. Vol. 73(5). P.956-961

44. Naples J.M., Shiff C., Rosler K.H., Schistosoma mansoni: cercarial effects of cedarwood oil and various of its components // J Trop Med Hyg. 1992. Vol . 95 (6). P. 390-396
45. Saleh M.M., Zwaving J.H., Malingre T.M. The essential oil of *Apium graveolens* var. *secalinum* and its cercaricidal activity // Pharm. Weekbl Sci. 1985. Vol. 13 (7). P. 277-279
46. Graczyk T.K., Shiff C.J. Recovery of avian schistosome cercariae from water using penetration stimulant matrix with an unsaturated fatty acid.//American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.2000.Vol 63.№3.p.174-177
47. Angioni A., Barra A., Russo M.T. Chemical Compositions of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity // J Agric Food Chem. 2003. 51. p. 3073-3078
48. Eller F.J., Taylor S.L. Pressurized fluids for extraction of cedarwood oil from *Juniperus virginiana* // J Agric Food Chem. 2004. 52. p. 2335-2338
49. Климович Е.Н., Гавриленко Н.В., Спиридович Е.В., Курченко В.П. Влияние кремов различного состава на жизнеспособность и поведенческие реакции церкарий трематод (сообщение 5) // Биологически активные вещества растений в медицине, сельском хозяйстве и других отраслях. Материалы международной научно-практической конференции (Нарочанские чтения – 2). Минск-Нарочь 2006. с. 80-84
50. Зубарев А.В., Власова А.Б., Шутова А.Г., Спиридович Е.В., Решетников В.Н., Курченко В.П. Экологические, биохимические и физиологические основы для создания средств привлечения и отпугивания шистосоматид (сообщение 6) // Биологически активные вещества растений в медицине, сельском хозяйстве и других отраслях. Материалы международной научно-практической конференции (Нарочанские чтения – 2). Минск-Нарочь 2006. с. 85-99
51. Żbikowska E. Is there a potential danger of "swimmer's itch in Poland? // Parasitology Research, 2002, vol. 89, №1, p. 59 - 62
52. Химическая энциклопедия: в 5 томах: том 5 / Редкол.: Зефиоров Н.С. (гл. ред.) и др. – М.: Большая Российская энциклопедия, 1998. – 783 с.
53. Кинтя П.К., Фадеев Ю.М., Акимов Ю.А. Терпеноиды растений. Кишинёв, 1990. – 151 с.
54. Naples J.M., Shiff C., Rosler K.H., Schistosoma mansoni: cercarial effects of cedarwood oil and various of its components // J Trop Med Hyg. 1992. Vol . 95 (6). P. 390-396
55. Достижения в области синтеза и разработки технологии инсекторепеллентов, М., 1981 (Обзорная информация НИИТЭХИМ, серия "Химические средства защиты растений")
56. Гладких С. Г., Средства, отпугивающие кровососущих насекомых и клещей, М., 1964.; Непоклонов А. А., Химические средства защиты животных, М., 1971
57. Шарков А.А. Защита от гнуса. Петрозаводск, "Карелия", 1979. - 40 с.
58. Дремова В. П., Наиболее эффективные современные репелленты и тактика их применения, в кн.: Природная очаговость болезней и вопросы паразитологии животных. Труды 7 Всесоюзной конференции по природной очаговости болезней и общим вопросам паразитологии животных, в. 6, ч. 2, Таш., 1972.
59. MacFarlane WV (1949) Schistosome dermatitis in New Zealand. II. Pathology and immunology of cercarial lesions. Am J Hyg 50:152-167
60. Bruckner D.A. (1974) Differentiation of pre- and postacetabular glands of schistosome cercariae using apomorphine as a stain // J Parasitol 60: p. 752–756
61. Stirewalt M.A., Kruidenier F.J. (1961) Activity of the acetabular secretory apparatus of cercariae of *Schistosoma mansoni* under experimental conditions // Exp Parasitol 11: p. 191–211
62. Bruckner D.A. (1974) Differentiation of pre- and postacetabular glands of schistosome cercariae using apomorphine as a stain // J Parasitol 60: p. 752–756
63. Horák P., Kolářová L., Adema C.M. (2002) Biology of the schistosome genus *Trichobilharzia* // Adv Parasitol 52: p. 155–233
64. Haas W., van de Roemer A. (1998) Invasion of the vertebrate skin by cercariae of *Trichobilharzia ocellata*: penetration processes and stimulating cues // Parasitol Res 84: p. 787–795

65. Feiler W., Haas W. *Trichobilharzia ocellata*: chemical stimuli of duck skin for cercarial attachment // *Parasitology* 96: p. 507–517
66. Appelton C.C., Brock K. (1986) The penetration of mammalian skin by cercariae of *Trichobilharzia* sp. (Trematoda: Schistosomatidae) from South Africa // *Onderstepoort J Vet Res* 53: p. 209-211
67. Grabe K., Haas W. Navigation within host tissues: cercariae orientate towards dark after penetration // *Parasitology Research*, vol. 93, №2, 2005. p. 111-113
68. Бондарева Л.А. Внутриклеточная Ca<sup>2+</sup>-зависимая протелилитическая система животных / Л.А. Бондарева, Н.Н. Немова, Е.И.Кяйвярйянен; [отв. ред. Т.А. Валева]; Ин-т биологии КарНЦ РАН. М.: Наука, 2006. – 294 с.
69. Siddiqui, A.A., Zhou Y., Podesta R.B. et al. Characterization of Ca<sup>2+</sup>-dependent neutral protease (calpain) from human blood flukes, *Schistosoma mansoni* // *Biochim. biophys. acta*. 1993. Vol. 1181. p. 37-44
70. Kumagai T., Maruyama H., Hato M. et al. *Schistosoma japonicum*: localization of calpain in the penetration glands and secretions of cercariae // *Exp. Parasitol.* 2005. Vol. 109, N 1. p. 53-57
71. Bahgat M., Ruppel A. (2002) Biochemical comparison of the serine protease (elastase) activities in cercarial secretions from *Trichobilharzia ocellata* and *Schistosoma mansoni* // *Parasitol Res* 88: p. 495–500
72. Dresden M.H., Edlin E.M. (1975) *Schistosoma mansoni*: calcium content of cercariae and its effects on protease activity in vitro // *J Parasitol* 61: p. 398–402
73. Dresden M.H., Asch H.L. (1977) Calcium carbonate content of the preacetabular glands of *Schistosoma mansoni* cercariae // *J Parasitol* 63: p. 163–165
74. Dorsey C.H., Stirewalt M.A. (1977) *Schistosoma mansoni*: localization of calcium-detecting reagents in electron-lucent areas of specific preacetabular gland granules // *Z Parasitenkd* 54: p. 165–173
75. Landsperger W.J., Stirewalt M.A., Dresden M.H. (1982) Purification and properties of a proteolytic enzyme from the cercariae of the human trematode parasite *Schistosoma mansoni* // *Biochem J* 201: p. 137–144
76. Modha J., Redman C.A., Thornhill J.A., Kusel J.R. (1998) Schistosomes: unanswered questions on the basic biology of the host-parasite relationship // *Parasitol Today* 14: p. 396–401
77. Mikeš L., Zidková L., Kašný M., Dvořák J. and Horák P. In vitro stimulation of penetration gland emptying by *Trichobilharzia szidati* and *T. regenti* (Schistosomatidae) cercariae. Quantitative collection and partial characterization of the products // *Parasitology Research*, vol. 96, №4, 2005. p. 230-241
78. Дятлова Н.М., Темкина В.Я., Попов К.И. Комплексоны и комплексонаты металлов. М.: Химия, - 1988.].
79. Зимон А.Д., Лещенко А.Д. Коллоидная химия.– М.: Химия, 1995.– 326с.
80. Алексеев К.В., Ли В.Н., Демишев В.Н. и др. РАП в фармации: получение и токсикологическая оценка. Фармация №3, 1986. – с.19-22

**CREATION OF THE PROTECTIVE MEANS BASED ON THE INFLUENCE OF  
ESSENTIAL OILS AND PHTHALATES ON THE VITALITY OF *SCHISTOSOMATIDAE*  
FAMILY CERCARIA**

**L.N. Akimova, G.G. Senkevich, T.G. Dunets, V.P. Kurchenko**

*Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*

The influence of terpenoid compounds and phthalic acid ethers on the vitality of *Schistosomatidae* family cercaria was observed. The potential components of protective means from

Труды БГУ 2008, том 3, часть 1

Биохимия

trematode larvae penetration into human skin were explored. Chemical composition of protective gels was argued.