

15. Shuto S., Ueda S., Imamura S., Fukukawa K., Matsuda A., Ueda T. A facile one-step synthesis of 5'-phosphatidyl nucleosides by an enzymatic two-phase reaction // *Tetrahedron Lett.* 1987. Vol. 28, № 2. P. 199–202.
16. Tsybul'skaya I., Kulak T., Kalinichenko E., Baranovsky A., Bogushevich S., Golubeva M., Kuzmitsky B. Phospholipid derivatives of cladribine and fludarabine: synthesis and biological properties / *Bioorg. Med. Chem.* 2015. Vol. 23, № 13. P. 3287–3296.

ЛИПОСОМНЫЕ ФОРМЫ ДОСТАВКИ ПРОТИВОМИКРОБНЫХ ОКРАШЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Бровко А.С., Литвинко Н.М., Павлюченко Н.И., Герловский Д.О.

Белорусский государственный университет, Минск,

anastasiabrovko37@gmail.com

Исследования последних лет, раскрытие детальных механизмов патогенеза инфекционных заболеваний, побуждают к разработке нанобиотехнологий, направленных на разработку адекватных методов терапии с внутриклеточной доставкой антимикробных препаратов в различные ткани и органы организма. Липосомные формы доставки лекарственных веществ могут справиться с поставленной задачей в полном объёме, поскольку компоненты бислойной мембраны липосом активно вовлекаются в метаболические процессы, взаимодействуют с клетками микро и макроорганизма, вызывают изменения функционального состояния отдельных клеток, органов и систем организма [1].

Включение препарата во внутреннее пространство липосом связано с определёнными трудностями, среди которых: растворимость антибиотика в физиологических условиях, сохранение исходной структуры препарата в ходе приготовления липосомных форм, возможность отслеживания самого процесса включения и разделения липосомных форм от не включившегося препарата и многое другое. А необходимость включения в состав липосом белковых молекул, для целенаправленной доставки последних к определённому типу клеток и вовсе ограничивает использование некоторые методов получения таких фосфолипидных везикул [2,3].

В связи с вышесказанным целью данной работы было получение липосомных форм препаратов в условиях максимально приближенных к физиологическим (ионная сила, pH, температура), с возможностью отслеживания самого процесса включения и разделения липосомных форм от не включившегося препарата. В связи с этим для приготовления липосомных препаратов были выбраны два окрашенных соединения-маркера рифампицин и эозин В, спектры которых имеют максимум поглощения в видимой области. В работе использовали водорастворимую форму рифампицина в буферном растворе аскорбата натрия pH 8,5-9, (спектральные характеристики представлены на рисунке 2). Липосомные препараты получали из плёнки фосфатидилхолина на ультразвуковом диспергаторе в буферных растворах соответствующих веществ. Фосфатидилхолин был выделен из яичного желтка и очищен методом флэш-хроматографии от примесей сопутствующих фосфолипидов. Очистку от не включённого соединения, после обработки ультразвуком, проводили методом гель-фильтрации (рисунок 1).

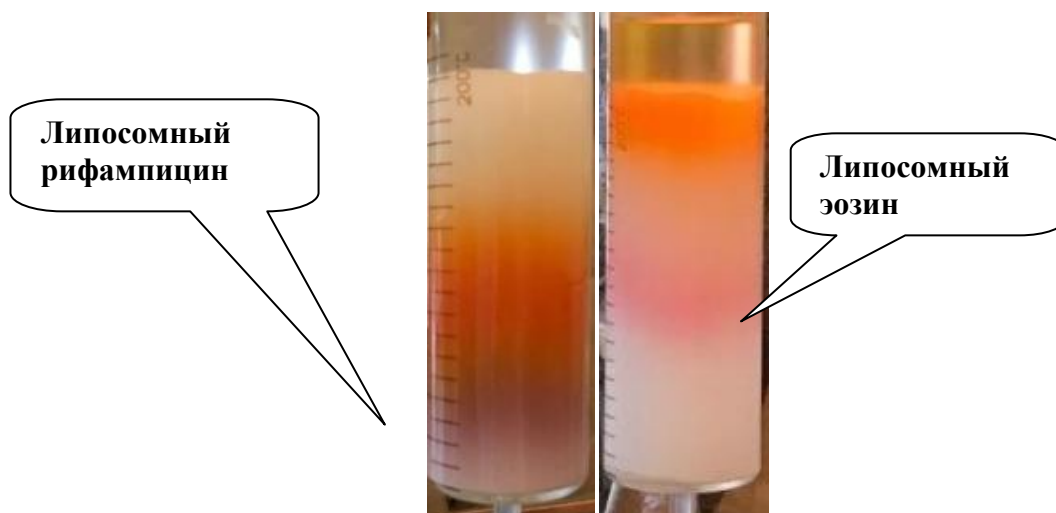


Рисунок 1 – Очистка липосомных форм рифампицина и эозина В от не включённых соединений методом гель фильтрации.

Фракции с липосомными препаратами характеризовались изменением спектра поглощения соединений-маркеров в видимой области (рисунок 1, 2) и содержали фосфатидилхолин, визуализируемый посредством экстракции смесью хлороформ-метанол с последующей окраской по методу Васьковского.

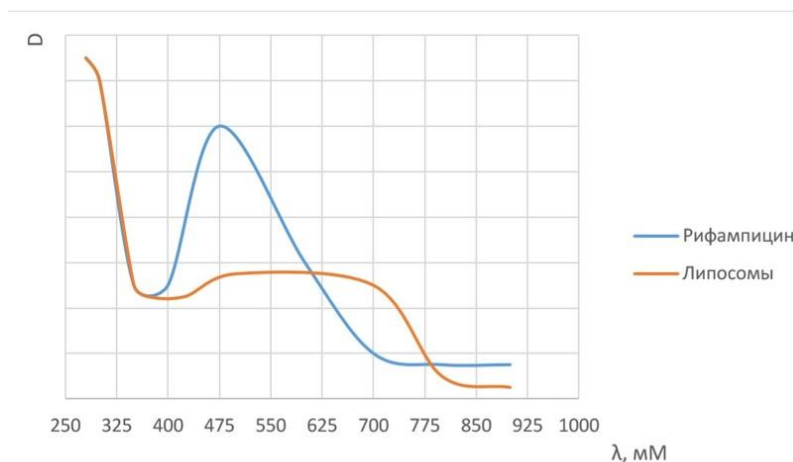
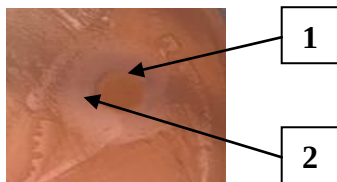


Рисунок 2 – Спектры поглощения рифампицина и его липосомной формы

Рифампицин – известный антибиотик, который действует на грамположительные (особенно стафилококки) и грамотрицательные (менингококки, гонококки) кокки [4]. Свойства эозина В как антибиотика проверяли в экспериментах с одноклеточными представителями трёх основных таксономических групп: бактерий (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, различной принадлежности по Граму), грибов (*Candida sake*, *C. utilis*), и растений (*Chlorella* sp.). Нами впервые установлено избирательное антимикробное действие эозина В (рисунок 2) по отношению к золотистому стафилококку (*Staphylococcus aureus*).

Зона задержки роста *Staphylococcus aureus* в присутствии Эозина В (50 мкмоль) составила 350 мм². Зон задержки роста в отношении других микроорганизмов не наблюдалось.



1 - зона задержки роста,
2 - место внесения препарата.

Рисунок 3 – Зона задержки роста *Staphylococcus aureus* в присутствии эозина В.

Полученные результаты обсуждаются в свете апробации пускового механизма для освобождения лекарств из липосомных нано-контейнеров с использованием специфичности микробных ФЛА₂ [5]. Дальнейшие исследования предполагают сравнение *in vitro* действия липосомных форм доставки препаратов с интактным веществом.

Литература

1. Дудниченко А.С. Липосомные лекарственные препараты в эксперименте и клинике / А.С. Дудниченко, Ю.М. Краєнопольский, В.И. Шве́ц - Харьков, РФ-Каравелла, 2001- 143 с.
2. Краєнопольский Ю.М. Технологические аспекты получения липосомальных препаратов в условиях GMP / Ю.М. Краєнопольский, А.Е. Степанов, В.И. Шве́ц. // Биофармацевтический журнал, 2009. Том 1. № 3,- С.18-29.
3. Липосомы в биологических системах / Под ред. Г. Григориадиса, Л. Аллисона. - Москва: Медицина, 1983.- 384 с.
4. Tupin A., Gualtieri M., Roquet-Baneres F., Morichaud Z., Brodolin K., Leonetti J. Resistance to rifampicin: at the crossroad between ecological, genomic and medical concerns. Inter. J. Antimicrob. Agents. 2010; 35: 519–23.
5. Литвинко Н.М., Герловский Д.О., Ермакович Ю.Ш. Фосфолипиды микроорганизмов – важнейшие биологически активные соединения белковой природы // Материалы 10-й Междунар. конф. «Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты» 7-9 июня 2017: сб. науч. работ: в 4-х ч., Т. 9. – Минск: Институт микробиологии НАН Беларуси, 2017. С.78-86.