

АНАЛИЗ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК НЕКОТОРЫХ ПОЛИЕНОВЫХ АНТИБИОТИКОВ В ПРИСУТСТВИИ ДМСО И ХОЛЕСТЕРИНА

*Г. Г. СУЛТАНОВА, Т. С. ПАШАЗАДЕ, Х. М. КАСУМОВ

Институт Ботаники, Министерство науки и образования АР, Баку, Азербайджанская Республика

Analysis of Spectral Characteristics of Certain Polyene Antibiotics in the Presence of Dmso and Cholesterol

*G. G. SULTANOVA, T. C. PASHAZADE,

Kh. M. KASUMOV

Institute of Botany, Ministry of Science and Education, Baku, Republic of Azerbaijan

Резюме

В работе представлены ультрафиолетовые (УФ) спектры различных концентраций полиеновых антибиотиков. Спектры леворина и амфотерицина В различаются по трём основным максимумам поглощения. Максимумы спектров поглощения антибиотиков варьируют в пределах 370–430 нм. Спектры УФ-поглощения отражают характерный спектр полиенов, относящихся к этому классу. Амфотерицин В и леворин в комплексе с холестерином понижают максимум УФ спектров поглощения. Анализ полученных результатов показывает, что молекулы холестерина, соединяясь с системами двойной связи амфотерицина В и леворина, постепенно уменьшают максимум поглощения УФ спектров, что создаёт возможности для более активного их применения в различных областях биомедицины.

Ключевые слова: леворин; амфотерицин В; холестерин; ультрафиолетовый спектр; холестерин-полиеновый комплекс

Для цитирования: Султанова Г. Г., Пашазаде Т. С., Касумов Х. М. Анализ спектральных характеристик некоторых полиеновых антибиотиков в присутствии ДМСО и холестерина. *Антибиотики и химиотерапия*. 2023; 68 (11–12): 10–18. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-10-18>.

Abstract

This work presents ultraviolet (UV) spectra of various concentrations of polyene antibiotics. The spectra of Levorin and Amphotericin B differ in three main absorption maxima. The maximum absorption spectra of antibiotics vary in the range of 370–430 nm. UV absorption spectra reflect the characteristic spectrum of polyenes belonging to this class. Amphotericin B and Levorin in combination with cholesterol lower the maximum of the UV absorption spectra. Analysis of the obtained results shows that cholesterol molecules, combining with double-bond systems of Amphotericin B and Levorin, gradually reduce the maximum absorption of UV spectra, which creates opportunities for their more active use in various fields of biomedicine.

Keywords: levorin; amphotericin B; cholesterol; ultraviolet spectrum; cholesterol-polyene complex

For citation: Sultanova G. G., Pashazade T. C., Kasumov Kh. M. Analysis of spectral characteristics of certain polyene antibiotics in the presence of dmso and cholesterol. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68 (11–12): 10–18. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-10-18>.

Введение

Полиеновые антибиотики (ПА) представляют собой большой класс природных соединений, продуцируемых микроорганизмами *Streptomyces* (*Actinomyces*) [1, 2]. Полиеновые макролидные антибиотики получают путём экстракции их из мицелия или всей культуральной жидкости различ-

ными органическими растворителями: н-бутанолом, метанолом, изопропанолом, этанолом, ацетоном. Современный перечень ПА содержит более 200 антибиотиков. Основными представителями полиеновых макролидных антибиотиков являются амфотерицин В, нистатин, микогептин, кандицидин D, леворин А₂ и пиримицин.

© Коллектив авторов, 2023

*Адрес для корреспонденции: Бадамдарское шоссе, 40, Институт ботаники АР, г. Баку, Азербайджанская Республика, AZ1004. E-mail: sultanqul@mail.ru

© Team of Authors, 2023

*Correspondence to: 40 Badamdar Highway, Institute of Botany, Baku, AZ1004 Republic of Azerbaijan. E-mail: sultanqul@mail.ru

Цель работы — выявление различий УФ спектров основных полиеновых антибиотиков, связанных с изменением положения 3 основных максимумов поглощения. Основной задачей исследования является роль взаимосвязи амфотерицина В и леворина в комплексе с холестерином в изменении максимума УФ спектров поглощения, что явилось бы хорошей характеристикой состояния ПА и привело бы к более активному их применения в различных областях биомедицины.

Материал и методы

В работе были изучены УФ спектры ряда полиеновых антибиотиков (амфотерицина В, леворина А и Б, микогептина, нистатина и др.) и проанализированы их характеристики при различных условиях. УФ спектры позволяют охарактеризовать различия структуры и физико-химических характеристик изучаемых соединений. Ультрафиолетовое (УФ) излучение составляет невидимую часть света и делится на три составляющие — А, В, С. Лучи А типа являются одной из причин развития рака кожи и ускорения старения организма. Они имеют большую длину волны и поэтому могут проникать в глубокие слои кожи. Лучи В типа — это ультрафиолетовые солнечные лучи, вызывающие ожоги кожи, так как они имеют значительно меньшую длину волны и поэтому обжигают внешние слои кожи. Наконец, УФ-лучи типа С создаются искусственно при выполнении некоторых производственных процессов, например при сварке. УФ-лучи — это электромагнитное излучение, которое занимает спектральный диапазон между видимыми и рентгеновскими лучами. Длины волн УФ-излучения находятся в диапазоне 10–400 нм (7,5–1014–3–1016 Гц). Электромагнитный спектр ультрафиолетового излучения можно разделить на различные типы полугрупп. В табл. 1 даны некоторые спектральные характеристики УФ излучения [3].

Ближний УФ-диапазон часто называют «чёрным светом», потому что он не распознаётся человеческим глазом, но при

отражении от некоторых материалов в результате явления фотолюминесценции спектр смещается в область видимого излучения. При относительно высокой яркости, например от диодов, если излучение занимает границу видимого света в 400 нм, глаз имеет способность видеть фиолетовый свет. УФ-излучение, разделённое на три спектральные области, значительно отличается по своему биологическому действию, и поэтому биологи в своей работе разделяют УФ-излучение на диапазоны: ближний ультрафиолет — УФ-лучи А (315–400 нм), средний ультрафиолет — УФ-В лучи (280–315 нм), дальний ультрафиолет — УФ-С лучи (100–280 нм). Практически все УФ лучи В и С поглощаются примерно на 90% при прохождении через атмосферу Земли. Лучи излучения в диапазоне УФ-А плохо поглощаются атмосферой.

Результаты и обсуждение

УФ-спектрофотометрия основана на облучении вещества монохроматическим УФ-излучением, длина волны которой меняется со временем. УФ-излучение генерируется разными длинами волн. Для каждого вещества спектры уникальны и они характеризуют идентификацию и количественное соотношение отдельных веществ.

УФ-лучи оказывают активное и комплексное биологическое воздействие на живые организмы. УФ-лучи проникают в ткани на глубину 0,5–1,0 мм, вызывая активизацию биохимических процессов. Под воздействием УФ-излучения изменяются многие морфофизиологические и биохимические параметры растительных клеток.

Особая роль в формировании проводящих амфотерициновых и левориновых каналов внутри мембраны принадлежит диметилсульфоксиду (ДМСО). ДМСО обладает способностью резко усиливать биологическую активность ПА

Таблица 1. Некоторые характеристики спектров УФ диапазона
Table 1. Separate characteristics of UV spectra

Название	Длины волн, нм	Скорость, пико герц	Количество энергии фотоны, eV
Короткие	400–300	0,75–1	3,10–4,13
УФ-А, короткие волны	400–315	0,75–0,952	3,10–3,94
Средние	300–200	1–1,5	4,13–6,20
УФ-В, средние волны	315–280	0,952–1,07	3,94–4,43
Длинные	200–122	1,5–2,46	6,20–10,2
УФ-С, короткие волны	280–100	1,07–3	4,43–12,4
Ekstremal	121–10	2,48–30	10,2–124

Таблица 2. Физико-химические свойства леворина А и леворина Б
Table 2. Physicochemical properties of Levorin A and Levorin B

Брутто формула	УФ спектр		Элементарный состав			Коэффициент нейтрализации	Коэффициент распределения	Азотсодержащая часть молекулы
	λ, максимум	E1%	С	Н	Н			
Леворин А $C_{59}H_{93}O_{22}N_2$	340	450	60,43	7,89	2,38	1180	0,8	р-аминоацетофенон, микозамин
	358	790						
	378	900						
	400	800						
Леворин В $C_{52}H_{98}O_{23}N_2$	342	375	59,72	7,87	2,24	1238	7,6	р-аминоацетофенон, микозамин
	363	620						
	382	980						
	406	950						

и индуцировать в мембранах избирательную проницаемость для ионов и органических соединений. Натуральный леворин сохраняет в своём составе компоненты леворина А и В и был получен в равных пропорциях. Леворин А и В как ароматические гептаны отличаются друг от друга как по составу, так и по УФ-спектрам. Некоторые физико-химические свойства компонентов леворина А и В приведены в табл. 2. При сравнении спектров можно сказать, что между спектрами леворина А и леворина В на-

блюдается bathochromic shift размером 5–6 нм [3]. Эти изменения зависят от ткани, стадии развития организма, его генотипа и условий облучения (длительности и спектрального состава излучения). УФ-С коротковолновые лучи (длины волн УФ-излучения от 200 нм до 280 нм) нацелены на ДНК в клетке. Говоря о полиенах необходимо отметить что существует семь двойных связей, которые отражаются в кольце макролактона леворина и включают полиеновый хромофор. Последний имеет три основных спектра поглощения в УФ-спектре леворина на длинах волн 358–360 нм, 378–380 нм и 400–403 нм. УФ-спектр на вышеупомянутых длинах волн характерен для гептаеновых противогрибковых антибиотиков [1, 2].

Как видно из рис. 1. различия между леворином и кандидином, помимо компонентного состава, заключаются в различиях между структурой хромофора и макролактонным кольцом их основных компонентов

В работах некоторых авторов показано, что главные компоненты кандидина и леворина близки, но не идентичны, что подтверждает, что кандидин более сложный комплекс, нежели леворин. При

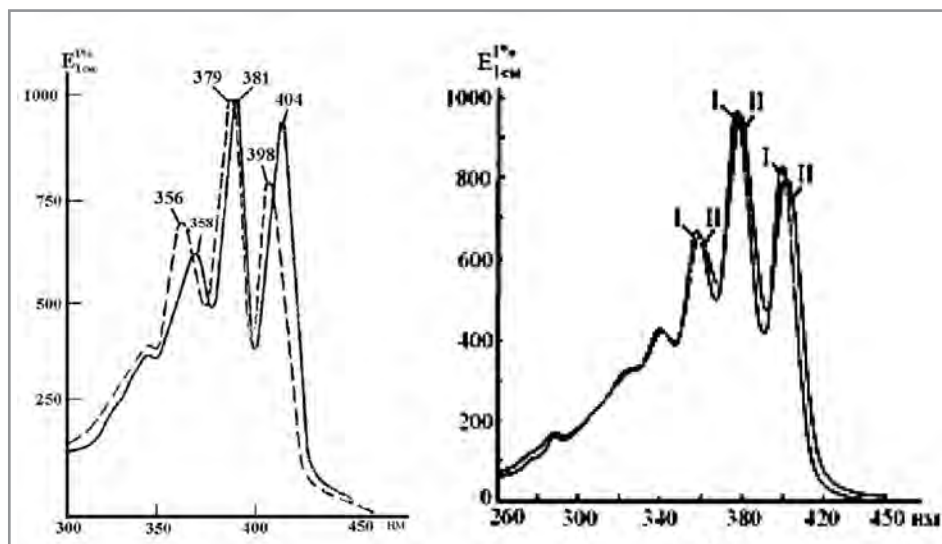


Рис. 1. УФ-спектры леворина А и леворина В в диметилсульфоксиде (а), а также леворина и кандидина (б).

Примечание. По оси ординат — количество испускаемого или отражённого излучения, а по оси абсцисс — длина волны.

Fig. 1. UV spectra of Levorin A and Levorin B in dimethyl sulfoxide (a), as well as levorin and candicin (b).

Note. The y-axis denotes the amount of emitted or reflected radiation, and the x-axis denotes the wavelength.

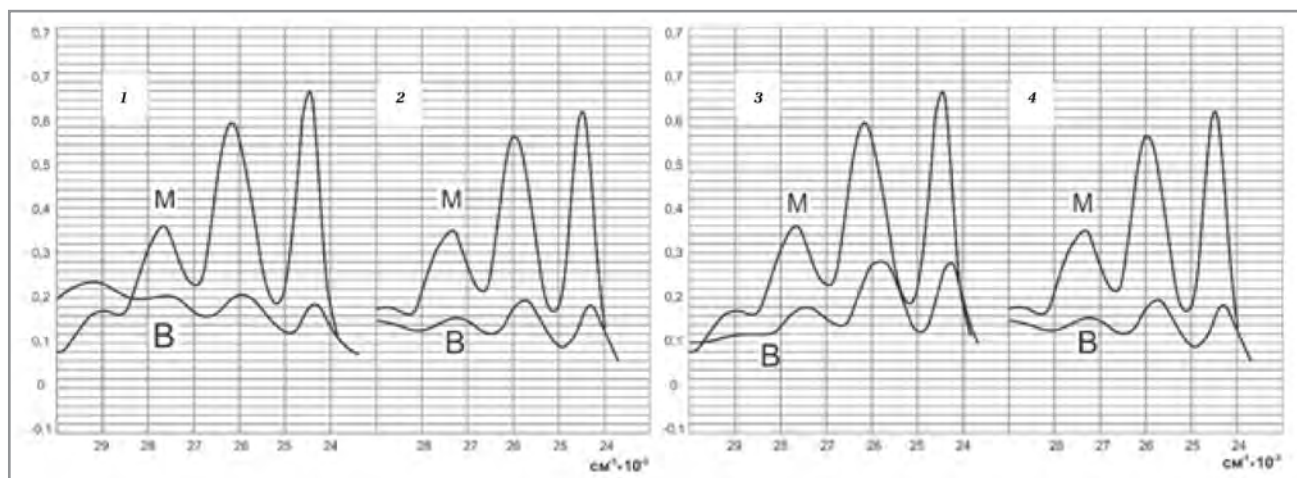


Рис. 2. УФ спектры исходного амфотерицина В (1) и его алкильных производных: метил — (2), этил — (3), пропил — (4) при концентрациях 3×10^{-5} М в метаноле (М) и в воде (В).

Fig. 2. UV spectra of the original amphotericin B (1) and its alkyl derivatives: methyl — (2), ethyl — (3), propyl — (4) at concentrations of 3×10^{-5} M in methanol (M) and water (W).

сравнении их спектров в метаноле можно заметить, что у кандицидина имеет место bathochromный сдвиг максимумов на 2 нм. Можно сказать, что различие между леворином и кандицидином заключается в компонентном составе, пространственном составе хромофора и всего макролактонного состава их главных компонентов [2, 3].

Анализ проведённых исследований показал, что наибольшая молекулярная дисперсность амфотерицина В достигается в «хороших» органических растворителях — метаноле (рис. 2, спектры М) и ДМСО. Вероятно, и биодоступность антибиотика была бы максимальной в таких растворителях. В водном растворе антибиотика в такой же концентрации образуют высокодисперсный коллоидный раствор с характерными максимумами, но меньшей величиной оптической плотности (рис. 2, спектры В), что объясняет их несколько меньшую активность по сравнению с растворами в ДМСО. Таким образом, в растворах ДМСО и метаноле антибиотики находятся в молекулярной форме, и в этой форме они обладают наиболее высокой биологической активностью. В водных растворах полиены находятся в ассоциированной форме, и потому менее активны [4, 5]. Синтез и изучение новых мембраноактивных антибиотиков на БЛМ способствует определению взаимосвязи между структурой и биологической активностью молекул, что позволяет направленно проводить синтез новых производных ПА с улучшенными терапевтическими свойствами и эффективно использовать при лечении эндогенных заболеваний.

Как видно из рис. 3, при избытке концентрации антибиотиков увеличивается и максимум УФ-спектра. Спектры леворина и амфотерицина В различаются по трём основным максимумам поглощения. Спектры поглощения антибиотиков варьируются в пределах 370–430 нм. Спектры УФ-поглощения отражают характерный спектр полиенов, относящихся к этому классу.

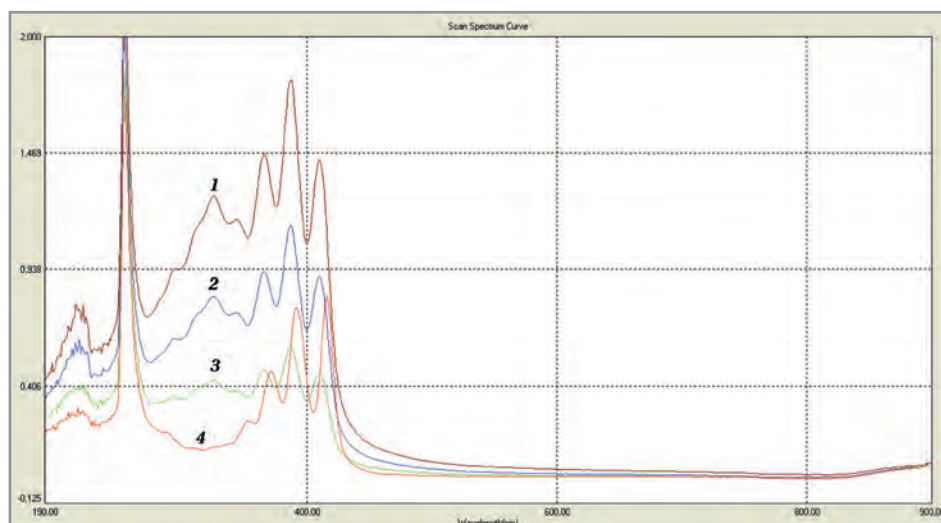


Рис. 3. УФ Спектры леворина и амфотерицина В в различных концентрациях.

Примечание. 1 — спектр исходного раствора леворина с активностью 29000 Ед/мг, растворённого в концентрации 1 мг/мл ДМСО и введённого в кварцевую ячейку в объёме 3 мл ДМСО. 2 — спектр раствора леворина, взятого в объёме 0,2 мл, полученного из исходного раствора леворина с активностью 29000 Ед/мг, растворённого в 1 мг/мл ДМСО леворина и введённого в кварцевую ячейку. 3 — спектр исходного раствора леворина с активностью 29000 Ед/мг, растворённого в концентрации 1 мг/мл ДМСО и введённого в кварцевую ячейку в объёме 3 мл ДМСО. 4 — яркочерная линия была получена при концентрации 0,01 мл амфотерицина В.

Fig. 3. UV spectra of Levorin and Amphotericin B at different concentrations.

Note. 1 — spectrum of the initial Levorin solution with an activity of 29000 U/mg at a concentration of 1 mg/ml DMSO Levorin and introduced into a quartz cell in a volume of 3 ml of DMSO at a concentration of 0.3 ml. 2 — spectrum of Levorin solution at a concentration of 0.2 ml, obtained from a source solution of Levorin with an activity of 29,000 U/mg at a concentration of 1 mg/ml DMSO Levorin and introduced into a quartz cell in a volume of 3 ml of DMSO. 3 — spectrum of the initial Levorin solution with an activity of 29000 U/mg at a concentration of 1 mg/ml DMSO Levorin and introduced into a quartz cell in a volume of 3 ml of DMSO at a concentration of 0.1 ml. 4 — a bright red line was obtained at a concentration of 0.01 ml of Amphotericin B.

На рис. 4 показаны дифференциальные УФ спектры амфотерицина и леворина при аналогичных условиях проведения эксперимента

Как видно из рис. 4 при более высокой концентрации леворинового антибиотика максимум спектра также увеличивается. Фактически, УФ-спектры ПА, полученные в различных концентрациях, являются одним из методов отражения их биологической активности. Ключевой особенностью ПА является то, что они создают УФ-спектр поглощения, характеризующийся тремя максимумами. Показан характерный спектр поглощения ПА в УФ-волнах. Спектр поглощения был получен между длинами волн 375–425 нм. Среди изученных антибиотиков наибольшей мембранной активностью отличаются амфотерицин В и леворин. Физико-химические свойства амфотерицина В и леворина в комплексной форме и их зависимость от концентрации изучались в различных пропорциях. Несмотря на то, что полиены хорошо растворимы в ДМСО, натриевая соль леворина в воде нахо-

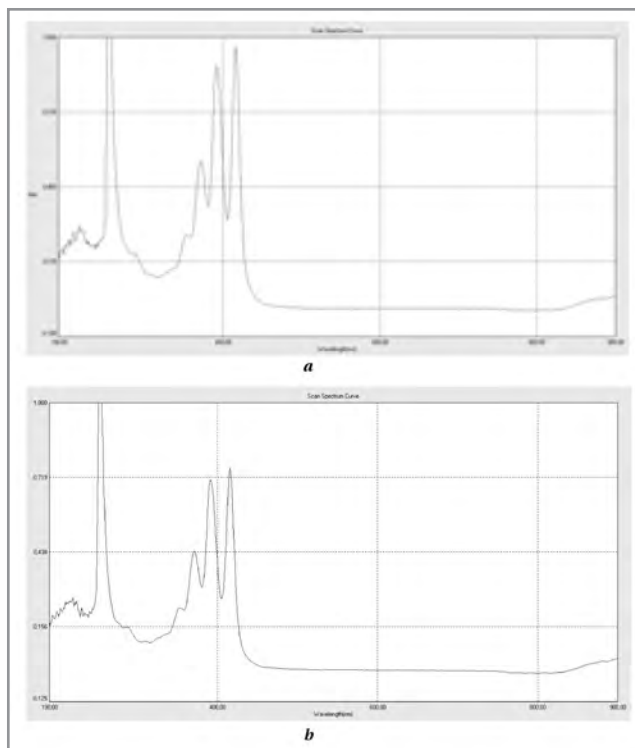


Рис. 4. УФ-спектры леворина и амфотерицина.

Примечание. *a* — УФ-дифференциальный спектр леворина, взятый в объеме 0,03 мл исходного раствора леворина, растворённого в 1 мг/мл ДМСО, и введённый в первую кварцевую ячейку в объеме 3 мл ДМСО. Во вторую кварцевую ячейку добавили 3 мл этанола. *b* — УФ-спектр амфотерицина В, растворённого в 1 мг/мл ДМСО, полученного из исходного раствора в объеме 0,02 мл и добавленного в первую кварцевую ячейку, содержащую 3 мл ДМСО. Во вторую кварцевую ячейку добавили 3 мл этанола.

Fig. 4. A-UV spectra of levorin.

Note. *a* — UV differential spectrum of Levorin, taken in a volume of 0.03 ml of the original Levorin solution, dissolved in 1 mg/ml DMSO, and introduced into the first quartz cell in a volume of 3 ml of DMSO. 3 ml of ethanol was added to the second quartz cell. *b* — UV differential spectrum of Amphotericin B dissolved in 1 mg/1 ml of DMSO, obtained from a stock solution in a volume of 0.02 ml and added to the first quartz cell containing 3 ml of DMSO. 3 ml of ethanol were added to the second quartz cell.

дится в виде тонкой коллоидной дисперсии, тогда как в растворах этилового и метилового спирта препарат диспергируется в молекулы с образованием настоящих растворов. Показаны УФ-спектры водных и метанольных растворов. В водных и метанольных растворителях наблюдается значительное ослабление образования максимального спектра поглощения при переходе на большие длины волн в воде по сравнению с растворами метанола [6].

На рис. 5 показаны УФ-спектры производных леворина, в которых N-диацетиллевориновая

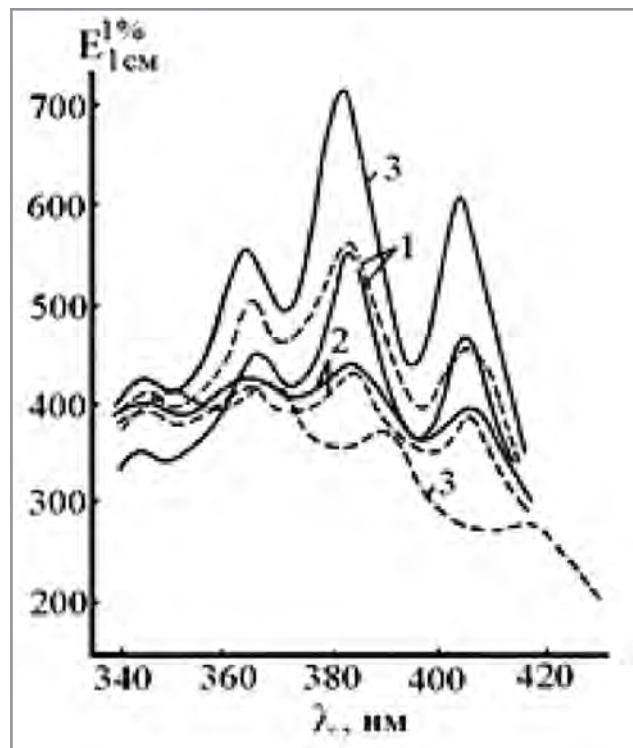


Рис. 5. УФ спектры поглощения водорастворимых производных леворина в воде.

Примечание. 1 — натриевая соль N-диацетиллеворина; 2 — натриевая соль сукцинил леворина; 3 — натриевая соль леворина.

Fig. 5. UV absorption spectra of water-soluble Levorin derivatives in water.

Note. 1 — sodium salt of N-diacetyllevorine; 2 — sodium salt of succinyl Levorin; 3 — sodium salt of Levorin.

натриевая соль, сукцинил-натриевая соль леворина и натриевая соль леворина растворимы в воде и метаноле.

Как видно из рис. 5. растворимость и относительная вязкость растворов натриевой соли леворина значительно снижается при нагревании до +35°C и с изменением pH. Минимум вязкости (pH 5,4–5,5) соответствует минимуму растворимости амфолита леворина, что подтверждает изоэлектрическое состояние молекулы антибиотика в данной точке. Амфотерный характер леворина обусловлен наличием в его молекуле одной карбоксильной и двух аминогрупп. Это позволяет производным оставаться активными как в щелочной, так и в кислой среде.

Впервые нами был получен спектр поглощения ДМСО (рис. 6).

Как видно из рис. 6, *a*, спектр поглощения ДМСО проявляется в низких волнах поглощения в диапазоне 222–224 нм. На рис. 6, *b* также показан УФ-дифференциальный спектр поглощения амфотерицина В в ДМСО-растворителе. В каждой кювете находится 3 мл ДМСО. Амфотерицин В растворяется в 1 мл ДМСО в объеме 1 мг, создавая материнский раствор, и таким образом концент-

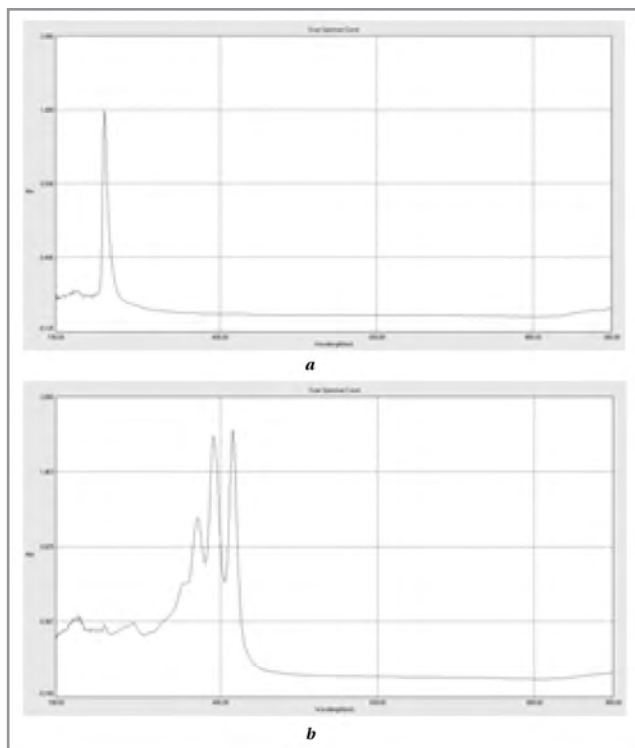


Рис. 6. УФ-спектр ДМСО.

Примечание. *a* — в 1 кювете содержится 3 мл этанола, а в другой кювете — 3 мл ДМСО. Температура 24°C. *b* — в обеих кюветах находится ДМСО в объеме 3 мл. К контрольной кювете добавляли 0,15 мл амфотерицина В, взятого из исходного раствора 1 мг/мл ДМСО. Температура 24°C [7, 8].

Fig. 6. A-UV spectrum of DMSO.

Note. *a* — the first cuvette contains 3 ml of ethanol, and the other cuvette contains 3 ml of DMSO. Temperature was set to 24°C. *b* — both cuvettes contain DMSO in a volume of 3 ml. 0.15 ml of Amphotericin B, taken from a stock solution of 1 mg/ml DMSO, was added to the control cuvette. Temperature 24°C [7, 8].

рация амфотерицина В в материнском растворе составляет 1×10^{-3} м. Амфотерицин В, взятый в объеме 0,15 мл этого материнского раствора, добавляется в одну кювету. Таким образом, конечная концентрация молекул амфотерицина В в кювете составляет 2×10^{-5} м. На рис. 7 показано схематическое изображение молекулярной структуры ДМСО. Молекула ДМСО амфифильна и высокополярна. Молекулы ДМСО имеют цепочечное строение, обусловленное кислородными связями. Исследования спектров поглощения ДМСО в интервале длин волн 350–2200 нм показали, что ДМСО в указанном интервале длин волн оптически прозрачен. ДМСО хорошо растворяется в воде. Биологическая активность амфотерицина В и леворина А₂ резко возрастает при растворении в ДМСО. Антибиотики в растворе ДМСО по сравнению с исходными водорастворимыми формами примерно в 10–100 раз эффективнее. ДМСО присущи такие свойства, как высокая резорбция и способность растворять мно-

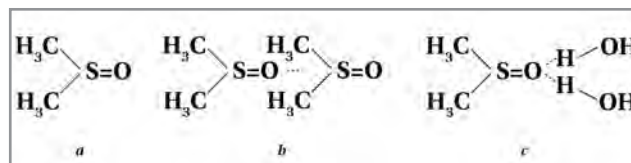


Рис. 7. Схематическое изображение молекулярной структуры ДМСО с полярной S=O связью.

a — структура ДМСО; *b* — полимерносвязанная форма молекул ДМСО; *c* — водородная связь между молекулами ДМСО и молекулами воды.

Fig. 7. Schematic representation of the molecular structure of DMSO with a polar S=O bond.

a — structure of DMSO; *b* — polymer-bound form of DMSO molecules; *c* — hydrogen bond between DMSO molecules and water molecules.

гие органические соединения до молекулярной формы [8, 9].

Молекулы ДМСО способны быстро проникать через биологические мембраны и преодолевать тканевые барьеры, включая кожу человека. Структура липидного бислоя, равно как и структура самих проникающих молекул, является важным фактором, обуславливающим проницаемость для растворимых в воде соединений. Молекулы ДМСО обладают высокой степенью резорбции благодаря тому, что величина диэлектрической проницаемости ДМСО находится между водой и жирами. Это свидетельствует о том, что ДМСО можно использовать для транспорта различных лекарственных соединений. ДМСО усиливает проницаемость большого числа низкомолекулярных веществ через биомембраны, а также способствует достаточно глубокому их проникновению внутрь клетки. Исследована зависимость проводимости бимолекулярных мембран от концентрации амфотерицина В и леворина А₂. Амфотерицин В резко усиливает проницаемость мембран для ионов, воды, не электролитов и органических соединений, когда находятся по обе стороны мембраны. Зависимость проводимости мембран от концентрации амфотерицина В растёт пропорционально 8–10-й степени, и эта степень зависит от структуры молекул ПА. При pH=3,0 и при уменьшении концентрации фосфолипидов вдвое в мембрано-формирующем растворе амфотерицин В эффективно увеличивает проводимость с одной стороны мембраны. В этом случае зависимость проводимости мембран оказывается пропорциональной 3–4-й степени концентрации амфотерицина В. Резкая зависимость проводимости мембран от концентрации амфотерицина В позволяет предположить, что ионная проницаемость связана с образованием в мембранах полиионных каналов олигомерной структуры. Думается, что система, ответственная за избирательную проницаемость мембран, локализована в гидрофильной цепи молекулы амфотерицина В [6].

Таблица 3. Спектральные характеристики различных групп полиенов
Table 3. Spectral characteristics of various groups of polyenes

Группы полиеновых антибиотиков	Число двойных связей	3 максимума поглощения УФ диапазона	Цвет
Триены	3	—	—
Тетраены	4	291,304,318	Светло жёлтый
Пентаены	5	317,331,350	Жёлтый
Гексаены	6	340,358,380	Жёлто-оранжевый
Гептаены	7	361,382,405	Оранжевый

В силу того, что ПА биологически активны в комплексе со стеринами вызывает интерес исследовать активность комплекса ПА с холестерином методом УФ-спектроскопии. ПА характеризуется тремя основными максимумами поглощения в УФ-поле из-за наличия молекулы, связанной двойными связями в хромофорной части в водных и органических растворах. При взаимодействии ПА с холестерином наблюдается изменение УФ-спектра поглощения. Увеличение числа двойных связей в молекуле полиена приводит к изменению его максимума и соответствующему изменению антибиотика, как показано в табл. 3. Добавление холестерина или других стерина в водный раствор ПА приводит к уменьшению УФ-спектра антибиотика, что является результатом образования комплекса ПА с холестерином. При хранении филипина в водном растворе натриевой соли, леворина и амфотерицина В наблюдалось снижение общей интенсивности их поглощающего спектра без изменения свойства УФ-спектра, что свидетельствует о процессе комплексообразования холестеринсодержащих полисахаридов. Присутствие стерина не изменяет длину волны максимума поглощения полиенов, а только изменяет максимум поглощения.

ПА холестеринсодержащий комплекс влияет на комплексное производное сывороточного альбумина, углеводов, фосфолипидов и мочевины в диапазоне pH от 2 до 9, но добавление метанола, этанола и диоксана в водный раствор приводит к расщеплению этого комплекса. Показано, что изменение УФ-спектра происходит при добавлении холестерина в водный раствор филипина, но эта часть спектра не меняется в растворителях. При добавлении холестерина к филипину в органическом растворителе изменения УФ-спектра не происходит, однако, если холестерин добавляется к филипину в водном растворе, то происходят значимые изменения в УФ-спектре. Методом УФ-спектроскопии исследовано взаимодействие полиенов с липосомой, содержащей стерин, и с клетками *Acholeplasma laidlawii*. Добавление холестеринсодержащих липосом в водный раствор антибиотика указывает на зависимость от липидного состава липосом [2, 5]. Липосомы, содержащие холестерин, изготовленные из лецитина, менее чувствительны к действию полиенов. Добавление клетки *Acholeplasma laidlawii*, выращенной на среде со стеринами,

в водный раствор антибиотика приводит к снижению максимума поглощения УФ-спектра. Это происходит в результате взаимодействия антибиотиков со стеринами, локализованными в клеточных мембранах *Acholeplasma laidlawii*. По эффективности взаимодействия с холестерином ПА располагаются в следующем порядке: филиппин > амфотерицин В > этрускомицин > пимарицин > нистатин. Строение стерина во многом определяет их взаимодействие с полиненасыщенными антибиотиками. Так, например, стерин, содержащий группу 3β-ОН, более эффективен не только в составе 3α-ОН или 3-кетогрупп стерина. Для взаимодействия полисахаридов со стеринами центр C17 антибиотика должен образовывать водородную связь с группой 3β-ОН молекулы стерина. В табл. 3 приведены максимумы УФ-поглощения полиенов в зависимости от количества двойных связей [1, 6].

На рис. 8 показаны УФ-спектры поглощения Амфотерицина В при взаимодействии с холестерином.

Закключение

Как видно из рис. 8, амфотерицин В и леворин в комплексе с холестерином понижают значение максимумов спектров поглощения УФ. Повышение содержания холестерина ещё больше снижает максимумы УФ-спектров поглощения. Полученные результаты показывают, что молекулы холестерина, соединяясь с системами двойной связи Амфотерицина В и леворина, постепенно уменьшают максимум поглощения УФ-спектров.

Известно, что через молекулы ДМСО облегчается доставка лекарственных препаратов через биологические мембраны в клетку. Однако механизм, с помощью которого ДМСО увеличивает проницаемость мембран до сих пор полностью не изучен. Недавно методом молекулярно-динамического моделирования было показано, что ДМСО может индуцировать водные поры в биологических мембранах, но пока нет прямых экспериментальных данных, подтверждающих этот результат. Изучено влияние ДМСО на диффузию ионов Ca^{2+} через клеточные мембраны. Повышение проницаемости Ca^{2+} , индуцированное ДМСО, не изменило увеличение проницаемости Ca^{2+} от блокаторов К-каналов и действия К-Na-АТФ-азы [10, 11]. Это показывает, что в клеточных мембранах, индуцированных ДМСО,

вода создаёт поры, и через эти поры ионы Ca^{2+} переносятся в клетки. Кроме того, проницаемость ионов Ca^{2+} значительно увеличивается из-за воздействия высоких концентраций ДМСО, что указывает на то, что индуцированные в присутствии ДМСО водяные поры селективны. Таким образом, эти исследования привели к экспериментальным доказательствам того, что ДМСО, будучи наиболее оптимальным растворителем ПА, может индуцировать водные поры в клеточных мембранах, что, в свою очередь, приводит к облегчению транспорта биологически активных веществ в клетки [4, 6, 9, 10].

Вывод

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что несмотря на некоторую схожесть полученных результатов для различных антибиотиков наблюдается также селективность их действия, что связано с различием их структуры. В последние годы выдвигается предположение о том, что для улучшения биологической активности некоторых ПА необходима химическая модификация их структуры, что может привести к более эффективному их применению в различных областях биологии и медицины.

Авторы выражают благодарность за финансовую поддержку Фонда Развития Науки при Президенте Азербайджанской Республики — Грант № EIF-BGM-3-BRTFR-2+/2017-15/12/3 при подготовке данной статьи.

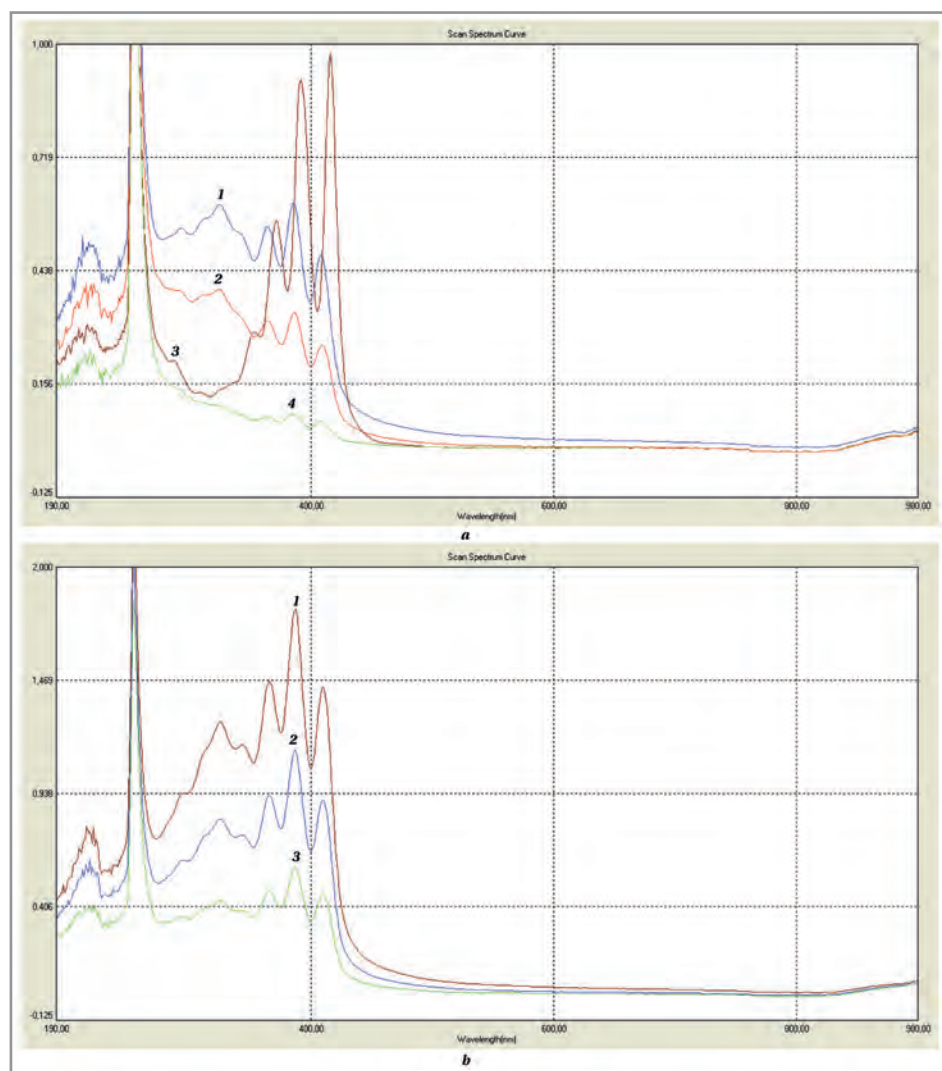


Рис. 8. Спектры УФ.

Примечание. *a* — спектры УФ-поглощения амфотерицина В + холестерин. 1 — 3 мл ДМСО + 0,03 мл амфотерицин В; 2 — 0,03 мл амфотерицина В в 1 мг/мл ДМСО и 0,5 мг растворённого в этаноле холестерина, добавленного в 3 мл ДМСО; 3 — в первой кварцевой кювете 3 мл ДМСО + 0,03 мл амфотерицин В и 1 мг растворённого холестерина; 4 — в первой кювете 0,03 мл амфотерицина В, растворённого в 1 мг/мл ДМСО + 2 мг холестерина в 3 мл ДМСО.

b — спектры УФ-поглощения леворина, полученные во время его взаимодействия с холестерином. 1 — 3 мл ДМСО + 0,03 мл леворина, растворённого в 1 мг/мл ДМСО, в первую кювету; 2 — 0,03 мл леворина растворённого в 1 мг/мл ДМСО, и 0,5 мг растворённого в этаноле холестерина, добавленного к 3 мл ДМСО; 3 — 0,03 мл леворина в 1 мг/мл ДМСО, и холестерин, в 1 мг этанола, добавлен к 3 мл ДМСО. Во всех экспериментах в контрольной кювете содержится раствор этанола в объёме 3 мл.

Fig. 8. UV spectra.

Note. *A* — UV absorption spectra of Amphotericin B+ cholesterol. 1 — 3 ml DMSO + 0.03 ml Amphotericin B. 2 — 0.03 ml Amphotericin B in 1 mg/ml DMSO, and 0.5 mg cholesterol dissolved in ethanol added to 3 ml DMSO. 3 — in the first quartz cuvette 3 ml of DMSO + 0.03 ml Amphotericin B and 1 mg of dissolved cholesterol. 4 — in the first cuvette 0.03 ml of Amphotericin B dissolved in 1 mg/ml DMSO + 2 mg of cholesterol in 3 ml DMSO.

b — UV absorption spectra of Levorin obtained during its interaction with cholesterol. 1 — 3 ml DMSO + 0.03 ml Levorin, dissolved in 1 mg/ml DMSO, were added to the first cuvette. 2 — 0.03 ml of Levorin dissolved in 1 mg/ml DMSO, and 0.5 mg of cholesterol dissolved in ethanol, were added to 3 ml of DMSO. 3 — 0.03 ml Levorine in 1 mg/ml DMSO, and cholesterol, in 1 mg ethanol, were added to 3 ml DMSO. In all experiments, the control cuvette contained a 3 ml ethanol solution.

Литература/References

1. *Kasumov K.* Discovery of single polyene channels and study of their properties in membranes. Physico-chemical characteristics of polyene channels depending on the structure of the molecules forming the channel. LAP LAMBERT. Academic Publishing. 2020; 531.
2. *Kintali S., Varshney G.K., Das K.* Interaction of amphotericin B with Ergosterol/cholesterol-containing POPG liposomes studied by absorption, fluorescence and second harmonic spectroscopy. *ChemistrySelect*. 2018; 3 (38): 10559–10565. doi: <https://doi.org/10.1002/slct.201801924>.
3. *Вязьмин С.Ю., Рябухин Д.С., Васильев А.В.* 2011. Электронная спектроскопия органических соединений. Санкт-Петербург, СПбГЛТА, 2011; 1–43. [*Vyazmin S.Yu., Ryabukhin D.S., Vasiliev A.V.* 2011. Electron spectroscopy of organic compounds. St. Petersburg, SPbGLTA, 2011; 1–43. (in Russian)]
4. *Pinisetty D., Alapati R., Devireddy R.V.* Molecular dynamics study of DMPC lipid bilayers interacting with dimethylsulfoxide — water mixtures. *The Journal of Membrane Biology*, 2012, v. 245 (12), p. 807–814. doi: [10.1007/s00232-012-9483-x](https://doi.org/10.1007/s00232-012-9483-x).
5. *Вайнштейн В.А., Николаевич Л.Н., Султанова Г.Г., Багирова А.А., Пашизаде Т.Д., Гасимова В.Х., Таги-заде Т.П., Касумов Х.М.* Действие химически трансформированных макроциклических полиеновых антибиотиков на опухолевые клетки. *Журнал Экспериментальной биологии и медицины*, 2018; 166 (12): 695–700. [*Vainshtein V.A., Nikolayevich L.N., Sultanova G.H., Baghirova A.A., Pashazade T.J., Gasimova V.Kh., Tagi-zade T.P., Kasumov Kh.M.* The action of chemically transformed macrocyclic polyene antibiotics on tumor cells. *J. Experimental Biology and Medicine*. 2019; 166 (6): 735–738.]
6. *Соловьева С.Е., Олсуфьева Е.Н., Преображенская М.Н.* Химическое модифицирование противогрибковых макролидных полиеновых антибиотиков. *Успехи химии*. 2011; 80 (2): 115–138. [*Solovyeva C.E., Olsufyeva E.N., Preobrajenskaya M.N.* Khimicheskoye modifizirovaniye protivogribkovix makrolidnix antibiotikov. *Uspekhi Khimii*. 2011; 80 (2): 115–138. (in Russian)]
7. *Sultanova G.H., Kasumov Kh.M.* Physico-chemical properties of erythrocyte membranes in interaction with polyene antibiotics in the field of action of ultrasonic waves. *J Biophysics*. 2021; 66 (12): 255–263. doi: <https://doi.org/10.31857/S0006302921020113>.
8. *Sultanova G.H., Samedova A.A., Qasimova V.Kh., Kasumov Kh.M., Nikolayevich L.N.* The action of antineoplastic medicines on the growth and metabolism of tumor cells in vitro. *SYLWAN J Poland*, 2017; 161: 161–169.
9. *Ибраимова В.Х., Касумов Х.М.* Международный Евразийский патент. Лекарственное средство, обладающее антивирусным, антибактериальным, антигрибковым, противоожоговым действием и способ его получения. Евразийский патент № 022317, заявка № 201200710/28. 2015; 1–17. [*Ibraqimova V.Kh., Kasumov X.M.* Mejdunarodniy Evraziyskiy patent. Lekarstvennoe sredstvo. obladayushee antivirushnim, antibakterialnim, protivoojogovim deystviyem I sposob eqo polucheniya. Evraziyskiy patent. № 022317, заявка № 201200710/28. 2015; 1–17. (in Russian)]
10. *Fei He, Weirong Liu, Shengchao Zheng, Li Zhou, Benlan Ye, Zhi Qi.* Ion transport through dimethyl sulfoxide (DMSO) induced transient water pores in cell membranes. *Mol Membr Biol*. 2012; 29 (3–4): 107–113. doi: [10.3109/09687688.2012.687460](https://doi.org/10.3109/09687688.2012.687460).
11. *Michal Jakl, Michal Straka, Jana Jaklová Dytrtová, Jana Roithová.* Formation and stability of calcium complexes of dimethyl sulfoxide in water. *International Journal of Mass Spectrometry*. 2014; 360: 8–14. doi: [10.1016/j.ijms.2014.01.001](https://doi.org/10.1016/j.ijms.2014.01.001).

Информация об авторах

Султанова Гюльнар Гаджибек кызы – к. б. н., доцент, ведущий научный сотрудник Института Ботаники Министерства науки и образования АР, Баку, Азербайджанская Республика. ORCID ID: 0000-0002-5402-1566

Пашизаде Тюркан Джошгун гызы — аспирант Института Ботаники Министерства науки и образования АР, Баку, Азербайджанская Республика. ORCID ID: 0000-0002-1920-3743

Касумов Халил Мамедович — д. б. н., профессор, член-корр. НАНА, Института Ботаники Министерства науки и образования АР, Баку, Азербайджанская Республика

About the authors

Gulnar Hajibek kzy Sultanova — Ph. D. in Biology, Associate Professor, Leading Researcher at the Institute of Botany of the Ministry of Science and Education of the Republic of Azerbaijan, Baku, Republic of Azerbaijan. ORCID ID: 0000-0002-5402-1566

Pashazade Turkan Joshgun gyzy — graduate student at the Institute of Botany of the Ministry of Science and Education of the Republic of Azerbaijan, Baku, Republic of Azerbaijan. ORCID ID: 0000-0002-1920-3743

Khalil M. Kasumov — D.Sc. in Biology, Professor, Corresponding Member of the ANAS, Institute of Botany of the Ministry of Science and Education of the Republic of Azerbaijan, Baku, Republic of Azerbaijan