

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 59



5-6'2014

Научно-практический журнал



Новые возможности лечения ОРВИ и гриппа



реклама
Рег. № 007362/10
информация для специалистов

Эргоферон

- Оказывает противовирусное, противовоспалительное и антигистаминное действие
- Сочетает преимущества этиотропной, патогенетической и симптоматической терапии
- Имеет широкий спектр противовирусной активности



ООО «НПФ «Материя Медика Холдинг»
Тел./факс (495) 684-43 33
Россия, 127473, г. Москва
3-й Самотечный пер., дом 9
www.materiamedica.ru
Лицензия № 99-04-000422 от 10.12.07

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ
ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ

Учредители:

Министерство здравоохранения
Российской Федерации

Государственный научный
центр по антибиотикам

«Антибиотики и химиотерапия» —
ежемесячный научно-практический
журнал
Основан в 1956 году

«Antibiotics and Chemotherapy»
Published 12 times a year
Founded in 1956

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

117105 Москва, Нагатинская ул., д. 3а,
ГНЦА
Тел.: 8-499-611-20-77
Факс: 8-499-611-42-38
E-mail: journalgnca@yandex.ru
Зав. редакцией Л. Б. Смирнова
Корректор: А. Н. Лобусева

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

Тел.: 8-499-611-20-77
Факс: 8-499-611-42-38
E-mail: gncajournal@yandex.ru
Л. И. Гусак

ИЗДАТЕЛЬ:

Издательство «ОКИ»



Издательство
ОКИ

Подписка по каталогу Роспечать:

- индекс **71404** — для индивидуальных подписчиков
- индекс **71405** — для предприятий и организаций

Подписка через объединённый каталог
«Пресса России»:

- индекс **10659** — для индивидуальных подписчиков
- индекс **10660** — для предприятий и организаций

Журнал зарегистрирован
в Комитете РФ по печати
Рег. свид. № 0110694 от 25 мая 1993 г.

Установочный тираж 5000 экз.

© ГНЦА 2014

Типография:

ООО «Новелла»

Дата выхода: 16.08.2014

Свободная цена

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

Том 59

5—6'2014

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
MONTHLY JOURNAL

Главный редактор
профессор, д. м. н. Сидоренко С. В.

Зам. главного редактора — к. м. н. Буданов С. В.
Отв. секретарь — к. м. н. Гучев И. А.
Отв. за выпуск — Белоусов Д. Ю.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Член-корр РАМН, проф., д. м. н. Белоусов Ю. Б.
Проф., д. м. н. Белобородов В. А.
Проф. Говорун В. М.
Проф. Гомберг М. А.
Д. б. н. Даниленко В. Н.
Проф. Клишко Н. Н.
Акад. РАМН, проф., д. м. н. Лобзин Ю. В.
Проф., д. м. н. Никитин А. В.
Проф., д. х. н. Преображенская М. Н.
Проф. Руднов В. А.
Проф. Тишков В. Н.
Проф., д. б. н. Фирсов А. А.
Проф., д. м. н. Яковлев С. В.
Проф. Яроцкий С. В.

Научные редакторы

к.м.н. Кузнецова С. М.
к.б.н. Бежавская И. В.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Беседнова Н. Н.	Клясова Г. А.
Бибикова М. В.	Ленёва И. А.
Васильев А. Н.	Митрохин С. Д.
Волжанин В. М.	Романцов М. Г.
Дмитриева Н. В.	Сычев Д. А.
Долгова Г. В.	Тец В. В.
Захарова Ю. А.	Цыбанев А. А.
Зуева Л. П.	Ших Е. В.
Ильина Е. Н.	

**Журнал* цитируется в: Medline; Ind Chem;
Index Medicus; Ind Sci Rev; Curr Biothech Abstr;
Current Contents (Life Sciences)**

**Cited in: Medline; Ind Chem; Index Medicus;
Ind Sci Rev; Curr Biothech Abstr;
Current Contents (Life Sciences)**

Оригинальные статьи

Молохова Е. И., Сорокина Ю. В.
Сравнительное изучение реологических характеристик
оригинального препарата Тридерм и его дженериков
в форме крема

В помощь практикующему врачу

Геппе Н. А., Кондюрина Е. Г., Галустян А. Н., Пак Т. Е.,
Бальцерович Н. Б., Жиглинская О. В., Камаев А. В.,
Лазарева С. Г., Лалэко С. Л., Мельникова И. М.,
Перминова О. А., Сабитов А. У.
Жидкая лекарственная форма Эргоферона —
эффективное и безопасное средство лечения острых
респираторных инфекций у детей. Промежуточные
итоги многоцентрового двойного слепого
платцебо-контролируемого рандомизированного
клинического исследования
Правада Н. С., Будрицкий А. М., Суханов Д. С.
Комплексная терапия пациентов с распространёнными
формами туберкулёза лёгких с применением меглумина
акридонатацетата
Генинг Т. П., Абакумова Т. В., Долгова Д. Р.,
Антонеева И. И., Генинг С. О., Пирмамедова С. С.,
Фомина А. В., Васильева Е. В.
Редокс-зависимые процессы в плазме крови, нейтрофилах
и эритроцитах больных раком яичников после
полихимиотерапии по схеме CAP

Обзоры

Мачавариани Н. Г., Терехова Л. П.
Биологически активные соединения,
образуемые микроорганизмами-эндофитами
Яхкин М. И., Таранцева К. Р.,
Марынова М. А., Стороженко П. А., Расулов М. М.
Молекулярно импринтированные полимеры для
пенициллинов и тетрациклинов
Бакулин М. К., Туманов А. С.,
Бакулин В. М., Калининский В. Б.
Вклад кировских микробиологов в разработку
производства пенициллина и стрептомицина
(к 70-летию создания технологии глубинного получения
первых отечественных антибиотиков)

По страницам журналов

Памятные даты

К 90-летию со дня рождения академика С. М. Навашина

Original Papers

- 3** Molokhova E. I., Sorokina Yu. V.
Comparative Investigation of Rheological Characteristics
of the Original Drug Triderm and Its Generics
in the Form of Cream

Guidelines For Practitioners

- 6** Geppe N. A., Kondiurina E. G., Galustyan A. N., Pak T. E.,
Baltserovich N. B., Zhiglinskaya O. V., Kamaev A. V.,
Lazareva S. G., Laleko S. L., Melnikova I. M.,
Perminova O. A., Sabitov A. U.
Ergoferon Liquid Dosage Form — Efficacious
and Safe Treatment for Childhood Acute Respiratory
Infections. Interim Outcomes of a Multi-Center,
Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled
Clinical Trial
- 15** Pravada N. S., Budritsky A. M., Sukhanov D. S.
Meglumine Acridonacetate and Complex Therapy
of Patients with Newly Identified Advanced
Pulmonary Tuberculosis
- 20** Gening T. P., Abakumova T. V., Dolgova D. R.,
Antoneeva I. I., Gening S. O., Pirmamedova S. S.,
Fomina A. V., Vasilyeva E. V.
Redox-Dependent Processes in Blood Plasma,
Neutrophils and Erythrocytes of Patients
with Ovary Cancer after Polychemotherapy by CAP Scheme

Reviews

- 26** Machavariani N. G., Terekhova L. P.
Biologically Active Compounds Produced
by Microbial Endophytes
- 34** Yakhkind M. I., Tarantseva K. R.,
Marynova M. A., Storozhenko P. A., Rasulov M. M.
Molecular Imprinted Polymers for Penicillins
and Tetracyclines
- 41** Bakulin M. K., Tumanov A. S.,
Bakulin V. M., Kalininsky V. B.
Contribution of Microbiologists of Kirov City to Development
of Penicillin and Streptomycin Production Processes (70 Years
Since Development of Technology for Submerged Production
of First Domestic Antibiotics)

Abstracts

Memorable Dates

- 54** In Commemoration of the 90th Anniversary of S. M. Navashin

* Журнал входит в перечень ведущих научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук.

Сравнительное изучение реологических характеристик оригинального препарата Тридерм и его дженериков в форме крема

Е. И. МОЛОХОВА, Ю. В. СОРОКИНА

Пермская государственная фармацевтическая академия, Пермь

Comparative Investigation of Rheological Characteristics of the Original Drug Triderm and Its Generics in the Form of Cream

E. I. MOLOKHOVA, YU. V. SOROKINA

Perm State Pharmaceutical Academy, Perm

Проведены реологические исследования мягких лекарственных форм (кремов) с глюкокортикостероидами: Тридерм (Бельгия), Акридерм ГК (Россия), Канизон плюс (Индия). По результатам выявлены отличия в структурно-механических свойствах (вязкость, предельное напряжение сдвига) между лекарственными препаратами. Показана необходимость проведения реологических испытаний при разработке лекарственных форм препаратов-дженериков.

Ключевые слова: кремы, реологические исследования, структурно-механические свойства, вязкость, напряжение сдвига.

Rheological properties of mild pharmaceutical formulations (creams) with glucocorticosteroids, such as Triderm (Belgium), Akriderm GK (Russia) and Kanizon plus (India) were studied. The study revealed differences in the structural-strength properties of the medicines (viscosity, critical shear stress). The necessity of rheological investigations during development of generic medicines was shown.

Key words: creams, rheological studies, structural-strength properties, viscosity, shear stress.

Введение

Наличие на отечественном фармацевтическом рынке большого количества идентичных по составу и механизму действия препаратов вызывает сложности при выборе даже в рамках одной лекарственной формы. Несмотря на то, что оригинальные и воспроизведённые лекарственные средства содержат одно и то же действующее вещество в одинаковой дозировке и лекарственной форме, эффективность и безопасность препаратов-дженериков может существенно различаться [1]. Близость свойств и терапевтического действия воспроизведённого и инновационного препаратов устанавливают в исследованиях фармацевтической и биологической эквивалентности. Эквивалентность лекарств оценивается также по физико-химическим свойствам действующих веществ, свойствам вспомогательных веществ, особенностям технологического процесса, условиям хранения и другим [2]. Существует тесная взаимосвязь между реологическими свойствами и высвобождением действующих веществ из лекарственной формы [3]. Целью настоящего исследования

было провести сравнительные реологические исследования оригинального препарата Тридерм и его дженериков Акридерм ГК и Канизон плюс в лекарственной форме «крем». В состав комбинированных лекарственных препаратов для терапии атопического дерматита, помимо глюкокортикостероида, входят антибиотик (аминогликозид) и противогрибковое средство.

Материал и методы

В качестве объектов для изучения структурно-механических свойств выбраны следующие препараты в форме крема: Тридерм (Schering-Plough, Бельгия) — оригинальный препарат, Акридерм ГК (ОАО ХФК «Акрихин»), Канизон плюс (AGIO, Индия). Все кремы содержат: бетаметазона дипропионат (глюкокортикостероид), гентамицина сульфат (антибиотик), клотримазол (противогрибковое средство). В качестве вспомогательных веществ в состав всех выбранных кремов вводят: вазелин, пропиленгликоль, парафин жидкий, цетостеариловый спирт, макрогола цетостеарат, вода очищенная, натрия дигидрофосфат дигидрат, консерванты.

Исследования реологических свойств кремов проводили с использованием ротационного вискозиметра Rheotest RV 2.1. (Германия).

Измерения проводили при 21°C (комнатная температура) и 30°C (температура кожи); регистрацию показаний прибора производили вначале при последовательно возрастающих, затем последовательно убывающих скоростях вращения конуса (диапазоне I, скоростном режиме ad). В качестве измерительного устройства использовали конусо-пластиночное устройство (K2).

© Е. И. Молохова, Ю. В. Сорокина, 2014

Адрес для корреспонденции: E-mail: profmol@nm.ru

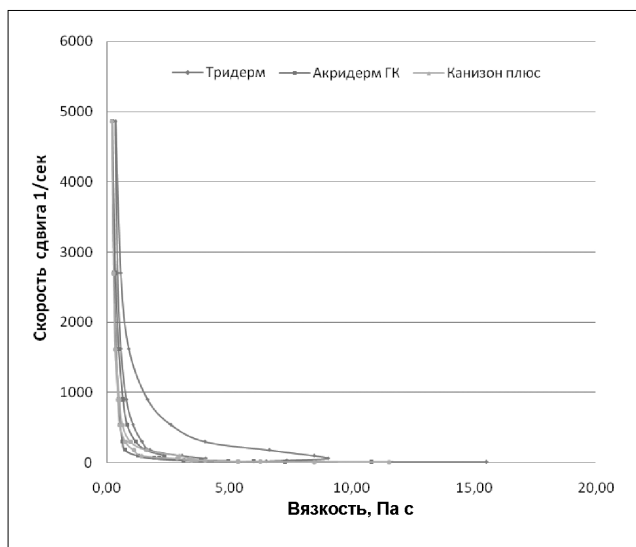


Рис. 1. Реологические показатели (вязкость) при $t=21^{\circ}\text{C}$.

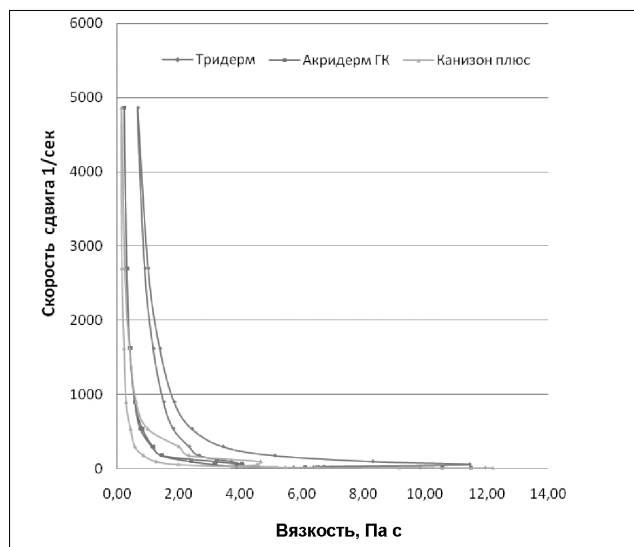


Рис. 2. Реологические показатели (вязкость) при $t=30^{\circ}\text{C}$.

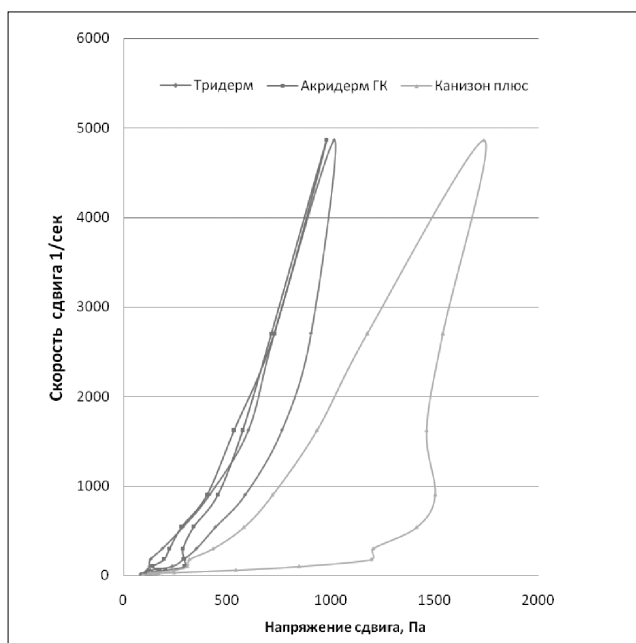


Рис. 3. Реологические показатели (напряжение сдвига) при $t=21^{\circ}\text{C}$.

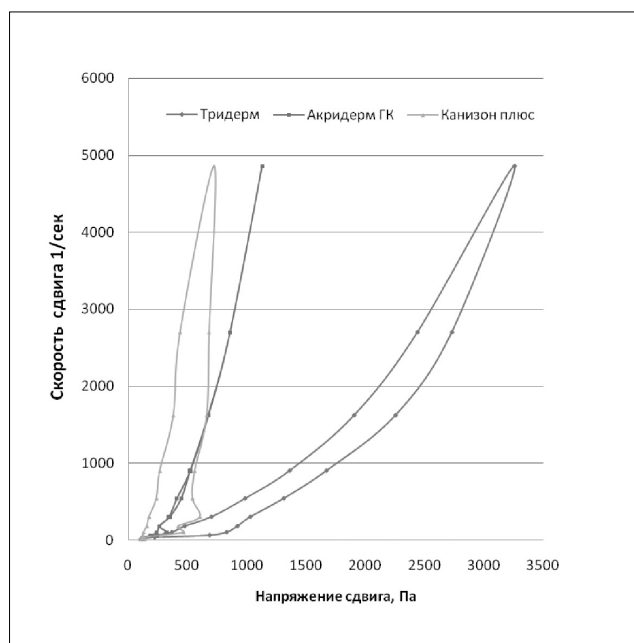


Рис. 4. Реологические показатели (напряжение сдвига) при $t=30^{\circ}\text{C}$.

Результаты и обсуждение

По полученным данным построены графики зависимости вязкости и напряжения сдвига от скорости сдвига для каждого из кремов. Кривые зависимости вязкости от скорости сдвига (рис. 1—2) показали, что системы имеют наибольшую вязкость при малых скоростях сдвига (процессы разрушения и восстановления структуры равновесны).

Во всех изученных кремах с увеличением скорости сдвига происходило уменьшение вязкости, так как процесс разрушения преобладал над восстановлением. При больших скоростях сдвига наблюдалась минимальная вязкость кремов, так как

структура была полностью разрушена. С уменьшением скорости сдвига структура медленно восстанавливалась, но, уже не достигая первоначального состояния [4, 5].

На рис. 3—4 представлена зависимость напряжения сдвига от скорости сдвига. Из графиков видно, что скорость сдвига минимальна при малых значениях напряжения сдвига, так как структура кремов разрушалась в незначительной степени. С увеличением напряжения сдвига разрушение структуры начинало преобладать над восстановлением, и скорость сдвига увеличива-

лась (процесс отражает восходящие кривые). При этом наблюдается некоторый период псевдопластического течения (вогнутость кривых), сменяющийся периодом истинно пластичного течения (линейный участок). При снижении величины напряжения сдвига структура кремов начинала восстанавливаться (процесс отражает нисходящая кривая). При этом на графиках отчетливо видны петли гистерезиса (особенно в случае Тридерма, Канизона плюс), характерные для тиксотропных систем [6]. Отличие между восходящей и нисходящей петлями на графиках объясняется сохранением остаточной деформации после ослабления структуры под влиянием приложенного напряжения.

Тридерм (оригинальный препарат) при 21°C и 30°C обладает устойчивыми структурно-механическими свойствами, что показывает наличие широкой петли гистерезиса. Канизон плюс при

температуре 30°C проявляет менее выраженные свойства структурированной системы по сравнению с таковыми при комнатной температуре и в сравнении с оригинальным препаратом. Об этом говорит уменьшение ширины петли гистерезиса. Отсутствие петли гистерезиса на графике Акридерма ГК говорит о наличии у него свойств, более близких к ньютоновским жидкостям, чем к структурированным системам.

Заключение

Выявленные отличия в структурно-механических свойствах между лекарственными препаратами разных производителей указывают на возможные отличия в биологической доступности кремов с глюкокортикостероидами [7]. Это указывает на необходимость проведения реологических испытаний при разработке лекарственных форм препаратов-дженериков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Давыдова К.С. Оригинальные и воспроизведенные лекарственные средства — реалии современного фармацевтического рынка. Ремедиум 2011; 2: 69—70.
2. Рейхарт Д.В. Исследование биоэквивалентности лекарственных препаратов в России. Фармация 2010; 3: 5—8.
3. Сысуев Б.Б., Степанова Э.Ф. Изучение вязкостных свойств упруговязкопластичных гомогенных систем с природным минералом — бишофит. Фундамент исслед 2011; 11: 212—214.
4. Гусов Р.М., Овчаренко Л.П. Изучение реологических параметров и разработка офтальмологического геля азитромицина. Фармация 2010; 1: 32—35.
5. Перцев И.М., Гриценко И.С., Чуешов В.М. Мази в современной фармакотерапии. Фармация 2002; 2: 3—6.
6. Хаджиева З.Д., Тигиева З.Б. Исследования по выбору оптимальной мазевой основы наружной лекарственной формы для лечения атопического дерматита. Фундамент исслед 2010; 11: 155—158.
7. Романко Т.В., Аюпова Г.В., Федотова А.А., Муринов Ю.И., Романко В.Г. Оптимизация технологии адсорбционного вагинального геля методом реологии. Хим-фарм журн 2010; 44: 7: 40—43.

Жидкая лекарственная форма Эргоферона — эффективное и безопасное средство лечения острых респираторных инфекций у детей. Промежуточные итоги многоцентрового двойного слепого плацебо-контролируемого рандомизированного клинического исследования

Н. А. ГЕППЕ¹, Е. Г. КОНДЮРИНА², А. Н. ГАЛУСТЯН³, Т. Е. ПАК⁴, Н. Б. БАЛЬЦЕРОВИЧ⁵,
О. В. ЖИГЛИНСКАЯ⁶, А. В. КАМАЕВ⁷, С. Г. ЛАЗАРЕВА⁸, С. Л. ЛАЛЭКО⁹,
И. М. МЕЛЬНИКОВА¹⁰, О. А. ПЕРМИНОВА¹¹, А. У. САБИТОВ¹²

¹ Кафедра детских болезней Первого московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации

² Новосибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации

³ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации

⁴ Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации

⁵ Детская городская поликлиника № 45 Невского района, Санкт-Петербург

⁶ Городская поликлиника № 44, Санкт-Петербург

⁷ Городская детская поликлиника № 44, Санкт-Петербург

⁸ Альянс Биомедикал-Русская группа, Санкт-Петербург

⁹ Детская городская больница № 22, Санкт-Петербург

¹⁰ Ярославская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, на базе: Клинической больницы № 8, Ярославль

¹¹ Городская детская клиническая поликлиника № 5, Пермь

¹² Детская городская больница № 11, Екатеринбург

Ergoferon Liquid Dosage Form — Efficacious and Safe Treatment for Childhood Acute Respiratory Infections. Interim Outcomes of a Multi-Center, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial

N. A. GEPPE, E. G. KONDIURINA, A. N. GALUSTYAN, T. E. PAK, N. B. BALTSEROVICH, O. V. ZHIGLINSKAYA,
A. V. KAMAEV, S. G. LAZAREVA, S. L. LALEKO, I. M. MELNIKOVA, O. A. PERMINOVA, A. U. SABITOV

I. M. Sechenov 1st Moscow State Medical University, Moscow

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk

St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg

St. Petersburg State Pediatric Medical Academy, St. Petersburg

Municipal Children Polyclinic No. 45, Neva Region, St. Petersburg

Municipal Polyclinic No. 44, Children Polyclinic Department No. 41, St. Petersburg

Municipal Children Polyclinic No. 44, St. Petersburg

Biomedical-Russian Group Alliance, St. Petersburg

Municipal Children Hospital No. 22, St. Petersburg

Yaroslavl State Medical Academy, Yaroslavl

Municipal Children Clinical Polyclinic No. 5, Perm

Municipal Children Hospital No. 11, Ekaterinburg

Детская лекарственная форма Эргоферона — препарата для лечения гриппа и острых респираторных инфекций (ОРИ) — разработана с учётом широкого спектра патогенов (большинство из которых вирусы) и возрастных особенностей реагирования иммунной системы (отсутствие специфического иммунитета и иммунологической памяти, относительная «незрелость» иммунных реакций, сниженная интерферон-продуцирующая активность иммунокомпетентных клеток и др.). Эргоферон оказывает воздействие на универсальные механизмы противовирусной защиты, обеспечивающие развитие иммунного ответа независимо от типа вируса (систему интерферона и CD4+ клеток), а также на вирус-индуцированную либерацию гистамина и опосредованные им воспалительные реакции. За четыре года применения в клинической практике препарат показал высокий профиль эффективности и безопасности в лечении гриппа и ОРИ у взрослых пациентов. Целью многоцентрового двойного слепого плацебо-контролируемого рандомизированного исследования была оценка клинической эффективности и безопасности новой жидкой лекарственной формы Эргоферона в лечении ОРИ у детей. В публикации представлены результаты завершённого в соответствии с планом первого этапа исследования и промежуточного анализа (Interim analysis). *Методы.* Обследовано 162 пациента от 3 до 17 лет (средний возраст 8,2±3,9 лет) с типич-

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: 119105 Москва, Нагатинская ул., д. 3а.
Редакция журнала «Антибиотики и химиотерапия»

ными проявлениями ОРИ (температура $\geq 38,0^{\circ}\text{C}$, измеренная электронным инфракрасным термометром в области височной артерии; выраженность симптомов ≥ 4 баллов по балльной шкале) в период сезонной заболеваемости из 13 исследовательских центров России. Эргоферон по лечебной схеме в течение 5 дней был назначен 82 пациентам; 80 детей получали плацебо. Длительность наблюдения составила 6 дней. Эффективность терапии анализировали на основании утренних, вечерних и суммарных за день оценок симптомов ОРИ, включая лихорадку, общие симптомы и симптомы со стороны верхних дыхательных путей подсчитывали суммарный индекс (СИ) ОРИ; для анализа тяжести течения ОРИ применяли математическую модель «площадь под кривой». **Результаты.** Начиная со второго дня, количество пациентов с выздоровлением нарастало с 6% (утром) и 14% (вечером), до 20 и 29% — на 3-й, 58 и 61% — на 4-й день. Эффективность лечения Эргофероном была существенно выше, чем плацебо-терапия (критерий χ^2 в модификации Cochran-Mantel-Haenszel: $\chi^2=21,7$; $p<0,0001$). Эргоферон оказывал отчетливое влияние на лихорадку и другие проявления интоксикационного синдрома. Процент не лихорадящих больных с учётом конечной точки $\leq 37,2^{\circ}\text{C}$ в группе Эргоферона на второй день был 43% утром и вечером (против 25% утром и 19% вечером в группе плацебо; $\chi^2=10,6$; $p=0,012$), на третий — 83% утром и 84% вечером (против 60 и 54% в группе плацебо соответственно; $\chi^2=16,7$; $p=0,001$). Метод обобщённых линейных моделей (GENMOD) подтвердил достоверность различий между группами Эргоферона и плацебо по следующим позициям: 1) Эргоферон значимо эффективнее (до более низких цифр), чем плацебо, снижал температуру тела; 2) Эргоферон быстрее, по сравнению с плацебо, оказывал влияние на лихорадку (основной маркер вирусемии); 3) превосходство Эргоферона над плацебо-терапией было значимо и по утренним, и по вечерним показателям в течение всех пяти дней терапии. Начиная со второго дня лечения Эргофероном, СИ значимо уменьшался: с $13,0\pm 4,5$ до $7,9\pm 4,8$ на 2-й день, до $4,5\pm 2,9$ — на 3-й день (по данным дневника пациента), с $14,3\pm 4,2$ до $4,9\pm 3,0$ на 3-й день (по оценкам врача). Наиболее заметно снижалась тяжесть интоксикационных проявлений ОРИ, в том числе на 3-й день лечения по результатам объективного осмотра врачом (GENMOD: фактор Препарат — $\chi^2=147,8$; $p<0,0001$; фактор День лечения — $\chi^2=6,1$; $p=0,013$; пост-хок анализ Tukey-Kramer: $z=-3,09$; $p=0,024$). Средняя продолжительность лихорадочного периода на фоне применения Эргоферона составила $1,9\pm 0,8$ дня ($p<0,0001$). В целом длительность ОРИ у пациентов группы Эргоферона была значительно короче, чем в группе плацебо ($p=0,021$). «Площадь под кривой» для СИ в группе Эргоферона была достоверно меньше, чем в группе плацебо и по данным дневника пациента ($21,9\pm 10,9$ СИ $\times$ Дни против $28,0\pm 13,0$ СИ $\times$ Дни; $p<0,002$), и по результатам осмотра врачом ($12,4\pm 4,7$ против $14,2\pm 5,2$ СИ $\times$ Дни; $p=0,023$). Лечение Эргофероном способствовало уменьшению частоты приёмов жаропонижающих препаратов ($\chi^2=4,1$; $p=0,043$), особенно в первый день болезни. Мониторинг нежелательных явлений, общеклинических и биохимических анализов крови и мочи показал, что Эргоферон является безопасным лекарственным средством. Сочетанное использование Эргоферона с антипиретиками, деконгестантами, экспекторантами, ингаляционными кортикостероидами, препаратами кромоглициевой кислоты, антагонистами лейкотриеновых рецепторов, бета-2-агонистами короткого действия и местными антисептиками не приводило к проявлениям фармакологической несовместимости, антагонистическому или взаимно усиливающему действию. Не зарегистрировано случаев развития бактериальных осложнений, ухудшения течения заболевания, обострений сопутствующей аллергической и хронической ЛОР патологии. Дети хорошо переносили препарат и продемонстрировали 100% приверженность терапии. **Выводы.** Жидкая форма Эргоферона — эффективное и безопасное средство для лечения ОРИ у детей. Результаты исследования доказали эффективность препарата в отношении главных, ассоциированных с вирусемией и развивающихся вследствие неё синдромов — лихорадочного и общинтоксикационного. Быстрый эффект препарата помогал выздоравливать пациентам в более короткие сроки, а также снижал тяжесть течения ОРИ, особенно на ранних этапах болезни.

Ключевые слова: Эргоферон, острая респираторная инфекция, лечение, дети.

The pediatric dosage form of Ergoferon — a drug indicated for the treatment of influenza and acute respiratory infections (ARIs) — is developed taking in account the broad range of pathogens (most of which are viruses), and age-dependent features of immune system reactions (absence of specific immunity and immunological memory, relative «immaturity» of immune reactions, reduced interferon production by immunocompetent cells, etc.). Ergoferon interferes with the non-specific mechanisms of antiviral defence that ensure eliciting of an immune response, regardless of the virus type (the interferon system and CD4+ cells), and influences virus-induced histamine release and histamine-mediated inflammatory reactions. Used over four years in clinical practice, the drug has shown a high efficacy and safety profile for the treatment of influenza and ARIs in adult patients. The purpose of the multi-center, randomized, double-blind, placebo-controlled study was to evaluate the clinical efficacy and safety of a new ergoferon liquid dosage form in the treatment of ARIs in children. The publication contains the results of the first study stage completed as per the study plan and data from the interim analysis. **METHODS.** The screening involved a total of 162 subjects, aged 3 to 17 years (average, 8.2 ± 3.9 years), that had presented to 13 research centers based in Russia with common signs and symptoms of ARI (body temperature $\geq 38.0^{\circ}\text{C}$, as measured with a digital infrared temporal artery thermometer; symptom severity score ≥ 4) during seasonal morbidity. Ergoferon was administered in 82 subjects receiving the therapeutic regimen of the drug for 5 days; 80 children received placebo. The subjects were monitored for 6 days. Treatment efficacy was assessed on the basis of morning, evening and total daily ARI symptom scores, including scoring estimates of fever, general symptoms and symptoms affecting the nose, throat and chest. Along with this, calculations were performed to obtain the Total Index (TI) of ARI; illness severity was evaluated using a mathematical «area under the curve» model. **RESULTS.** Starting from Day 2, the percentage of convalescents was observed to increase — from 6% (morning) and 14% (evening) to 20% and 29% on Day 3, respectively, and 58% and 61% on Day 4. The results suggested a substantially higher efficacy of Ergoferon as compared to placebo treatment (the Cochran-Mantel-Haenszel χ^2 test: $\chi^2=21.7$; $p<0.0001$). Ergoferon had a marked effect on fever and other signs of intoxication. In Ergoferon group, the percentage of non-fever subjects, with the endpoint defined at $\leq 37.2^{\circ}\text{C}$, was 43% on Day 2, as estimated in the morning and the evening (vs 25% and 19% in the placebo group, respectively; $\chi^2=10.6$; $p=0.012$), and 83% in the morning and 84% in the evening on Day 3 (vs 60% and 54% in the placebo group, respectively; $\chi^2=16.7$; $p=0.001$). The Generalized Linear Model (GENMOD) procedure confirmed the significance of differences between the Ergoferon and placebo groups according to the following parameters: 1) Ergoferon was significantly more effective in reducing body temperature (to lower values) than the placebo; 2) Ergoferon had an earlier effect on fever (main marker of viremia), as compared to placebo; 3) The significant Ergoferon's superiority over placebo was also evident by the morning and evening measurements throughout the five-day therapy. The TI was observed to significantly decrease starting from Day 2 of Ergoferon administration: from 13.0 ± 4.5 to 7.9 ± 4.8 on Day 2 and 4.5 ± 2.9 on Day 3 (based on

the patient's diary data); from 14.3 ± 4.2 to 4.9 ± 3.0 on Day 3 (based on the doctor's assessment). The severity of ARI-related intoxication signs was reduced most significantly, in particular as indicated by the results of doctor's objective examination on Day 3 (GENMOD: factor «Treatment» — $\chi^2=147.8$; $p<0.0001$; factor «Day of administration» — $\chi^2=6.1$; $p=0.013$; Tukey-Kramer post hoc analysis: $z=-3.09$; $p=0.024$). The average fever duration in ergoferon-treated subjects was 1.9 ± 0.8 days ($p<0.0001$). The overall duration of ARI was much shorter in Ergoferon group than in the group of placebo ($p=0.021$). The «area under the curve» measure of TI in Ergoferon group was significantly lower as compared to Placebo group, both according to the patient's diary records (21.9 ± 10.9 TI×Days vs 28.0 ± 13.0 TI×Days; $p<0.002$) and the doctor's examination (12.4 ± 4.7 vs 14.2 ± 5.2 TI×Days; $p=0.023$). Ergoferon treatment was associated with a lower frequency of using antipyretics ($\chi^2=4.1$; $p=0.043$), particularly on the first day of illness. The monitoring of adverse events as well as the haematology, biochemistry and urinalysis findings were indicative of Ergoferon's safety. No signs of drug incompatibility were observed as a result of ergoferon administration in combination with antipyretics, decongestants, expectorants, inhaled corticosteroids, cromoglicic acid derivatives, leukotriene receptor antagonists, short-acting beta2 agonists and topical anti-septics. There were also no cases of bacterial complications, worsening of illness severity, or acute exacerbations of coexisting allergy or chronic ENT pathology. The children demonstrated good drug tolerance and 100% treatment compliance. **CONCLUSIONS.** Ergoferon liquid dosage form is an efficacious and safe treatment for ARIs in children. The study results demonstrated the drug's efficacy against the major syndromes associated and caused by viremia — fever and general intoxication. The early onset of the drug's effect was shown to result in a shorter time to convalescence and reduced ARI severity, particularly during the initial days of illness.

KEY WORDS: *ergoferon, acute respiratory infection, treatment, children.*

Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), «лишь незначительное число лекарственных средств существует в специально разработанных для детей формах» [1]. В связи с этим одной из «Целей тысячелетия в области охраны здоровья детей» ВОЗ объявила «необходимость обеспечения доступа детей к надлежащим лекарственным средствам», представив в декабре 2007 года «Инициативу по производству лекарств в детских формах».

К детским препаратам, как известно, предъявляются особые требования: помимо соответствия всем стандартам безопасности и эффективности, они должны обладать характеристиками, которые бы учитывали анатомо-физиологические особенности маленьких пациентов и обеспечивали высокую комплаентность терапии [2].

Принимая во внимание, что наиболее распространёнными в детской популяции являются острые инфекции дыхательных путей, частота которых составляет 672,1 на 1000 детского населения [3], разработка лекарственных средств для их лечения весьма актуальна. Препараты, при создании которых учитывались такие факторы, как разнообразие респираторных патогенов, вызывающих заболевание (большинство из них — вирусы), широкий спектр клинических симптомов, которыми оно проявляется, а также возрастные особенности реагирования иммунной системы ребёнка, значительно помогают врачу-педиатру решить целый комплекс стоящих перед ним терапевтических задач.

К таким лекарственным средствам относится специально разработанная для детей жидкая форма Эргоферона («Материал Медика Холдинг»). Этот релиз-активный препарат содержит три компонента, созданных в результате технологической обработки исходных антител к интерфе-

рону-гамма (анти-IFN γ), CD4 (анти-CD4) и гистамину (анти-Н). За четыре года применения в клинической практике Эргоферон, выпускавшийся ранее только в одной «твёрдой» форме (в виде сублингвальных таблеток), показал высокий профиль эффективности и безопасности в лечении гриппа и ОРИ у взрослых пациентов [4—14]. Таргетное воздействие на эндогенный интерферон гамма (IFN γ) и мишень-ассоциированные рецепторы, модуляция их функциональной активности — отличительное свойство первого компонента Эргоферона (анти-IFN γ), который более 12 лет широко применяется в педиатрии в качестве релиз-активного препарата «Анаферон детский» [15—20]. Увеличение числа CD4+ и IFN γ рецепторов, усиление интерферон-зависимой активации CD4+ клеток, участвующих в развитии адекватного противовирусного ответа, — результат использования второго компонента Эргоферона — анти-CD4 в комбинации с анти-IFN γ [21, 22]. Снижение вирус-индуцированного высвобождения гистамина и выраженности гистаминопосредованных реакций при ОРИ — итог применения анти-Н [8, 22—24]. Таким образом, три компонента Эргоферона оказывают сочетанное влияние на различные этапы иммунного ответа и инфекционно-воспалительного процесса, что клинически проявляется в снижении тяжести течения гриппа/ОРИ и ускорении выздоровления пациентов, по сравнению со стандартной либо плацебо-терапией [4—14].

С учётом российских, а также разработанных ВОЗ, руководящих принципов по клиническим испытаниям с участием детей, проведено регистрационное многоцентровое двойное слепое плацебо-контролируемое рандомизированное исследование, цель которого продемонстрировать безопасность и клиническую эффективность новой жидкой лекарственной формы Эргоферона в лечении ОРИ у детей. Результаты завершённого в

соответствии с планом первого этапа исследования и промежуточного анализа (Interim analysis) представлены в данной публикации.

Материал и методы

В исследовании приняли участие 162 пациента от 3 до 17 лет (средний возраст $8,2 \pm 3,9$ лет), с типичными проявлениями ОРИ, в период сезонной заболеваемости, из 13 исследовательских центров России. Для того чтобы обеспечить равномерное участие пациентов различных возрастных групп, было включено 20% пациентов от 3 до 6 лет ($n=32$), 40% — от 6 до 12 лет ($n=65$) и 40% — старше 12 лет ($n=65$).

После подписания родителем/усыновителем, а также пациентом (если он достиг 14 лет) формы информированного согласия на участие в клиническом исследовании, проводилось обследование пациента, регистрировалась сопутствующая терапия.

Включались пациенты, обратившиеся к врачу в течение 24 ч от начала заболевания, выраженность которого соответствовала следующим критериям: температура тела не менее $38,0^{\circ}\text{C}$ на момент осмотра врачом; выраженность симптомов ОРИ ≥ 4 баллов (наличие, как минимум, 1 общего симптома ≥ 2 баллов и 1 симптома со стороны верхних дыхательных путей ≥ 2 баллов либо большего количества симптомов выраженностью ≥ 1 балла). Термометрию проводили в области височной артерии при помощи электронного инфракрасного термометра, предоставленного спонсором исследования для каждого пациента [25]. Тяжесть симптомов ОРИ, включая температуру тела, общие симптомы (головная боль, озноб, потливость, слабость, мышечная боль, сонливость), симптомы со стороны носа (выделения из носа, заложенность носа, чихание), горла (боль в горле, хрипота/охриплость голоса) и грудной клетки (кашель, боль/тяжесть в груди при локализации воспаления в трахее) оценивали по 4-балльной шкале, где 0 — отсутствие симптома; 1 — лёгкая степень; 2 — средняя степень; 3 — тяжёлая степень. На основании выраженности каждого из симптомов при последующей статистической обработке данных подсчитывался суммарный индекс (СИ) ОРИ.

Пациент не включался в исследование при наличии клинических проявлений ОРИ нижних дыхательных путей, бронхообструктивного синдрома, острой дыхательной недостаточности; подозрении на инвазивную бактериальную инфекцию, обострении или декомпенсации хронических заболеваний, включая хронические заболевания органов дыхания; наличии в анамнезе воспалительных, дегенеративных, демиелинизирующих заболеваний центральной нервной системы, полиневритов, эпилепсии, злокачественных новообразований, сахарного диабета, наследственной непереносимости фруктозы (вследствие наличия в составе исследуемого препарата мальтитола), аллергии/непереносимости любого из компонентов лекарственных препаратов, используемых в лечении, а также в случаях курения, употребления родителями/усыновителями/пациентом наркотиков, алкоголя, беременности/нежелания соблюдать методы контрацепции сексуально активными пациентами, психических заболеваний пациента/родителей/усыновителей, участия в других клинических исследованиях в течение 3 предшествующих месяцев.

За 1 месяц до включения в исследование, а также в ходе его проведения не разрешался приём противовирусных и антибактериальных средств; иммунных сывороток и иммуноглобулинов, вакцин; иммуностимуляторов и иммунодепрессантов; антигистаминных препаратов, фенспирида, омализумаба; комбинированных препаратов для симптоматической терапии ОРИ; антипиретиков, за исключением парацетамола и ибупрофена, предоставленных спонсором для применения с учётом показаний для проведения жаропонижающей терапии [26]. Пациенты могли получать не включённые в список запрещённых средства для симптоматической терапии ОРИ и лечения сопутствующих заболеваний [27, 28].

Длительность исследования составила 6 дней, в ходе которых пациенты трижды осматривались врачом (Дни 1, 3 и 6). В течение 5 дней родитель/усыновитель пациента и/или пациент старше 14 лет вели дневник, в котором отмечали выраженность симптомов заболевания, используя 4-балльную шкалу. По завершении курса лечения (День 6) проводилось заключительное обследование, контролировалась назначенная и сопутствующая терапия, её безопасность, проверялся дневник пациента.

Эффективность терапии по первичному критерию анализировали на основании утренних, вечерних и суммарных за день оценок выраженности всех симптомов ОРИ, включая лихорадку, общеинтоксикационные и катаральные симптомы. Критерием полного выздоровления было снижение температуры тела $\leq 37,0^{\circ}\text{C}$ (без последующего её повышения) и отсутствие всех симптомов ОРИ; критерием значимого улучшения — снижение температуры тела до $\leq 37,2^{\circ}\text{C}$ (также без последующего повышения) и минимальная выраженность одного — двух симптомов (суммарно в 2 балла и ниже). Для анализа температурной реакции использовались две конечные точки ($\leq 37,0^{\circ}\text{C}$ и $\leq 37,2^{\circ}\text{C}$); при этом учитывалось, что температура $\leq 37,2^{\circ}\text{C}$, измеренная в области височной артерии с помощью электронного инфракрасного термометра, соответствует нормальным значениям [25, 27].

В качестве вторичных критериев эффективности анализировали несколько показателей, включая динамику лихорадки, суммарный индекс тяжести симптомов ОРИ [(1) по данным объективного осмотра врачом и (2) по мнению ухаживающего за больным взрослого/пациента старше 14 лет], продолжительность основных симптомов, тяжесть течения ОРИ, наличие/отсутствие вторичных бактериальных осложнений, потребовавших назначения антибактериальных препаратов либо госпитализации пациента. Для объективной оценки тяжести течения ОРИ и сравнения её в обеих группах использовали математическую модель — построение «площади под кривой» для СИ выраженности всех симптомов. На основании оценок, сделанных в дневнике пациента на протяжении всех 5 дней лечения (значений температуры тела и выраженности всех симптомов ОРИ), подсчитывался СИ; поэтому «кривая СИ» по данным дневника пациента включала 5 значений, а «площадь под кривой» СИ рассчитывалась как произведение «СИ $\times$ п», где $n=5$ дней. Объективный осмотр пациента врачом в ходе исследования проводился в общей сложности 3 раза (на 1, 3 и 6 дни), поэтому «кривая СИ» по данным осмотра врача включала 3 значения, «площадь под кривой» СИ высчитывалась как произведение «СИ $\times$ п», где $n=3$ дня, и она была объективно меньше, чем первая площадь.

Оценка безопасности и переносимости исследуемой терапии проводилась на основании наличия и характера нежелательных явлений, их связи с лечением и других характеристик, а также динамики лабораторных показателей (общеклинических и биохимических анализов крови и мочи). В случае проведения визита на дому, взятие образца крови осуществлялось с помощью вакутейнера с последующей транспортировкой в локальную лабораторию в термоконтейнере.

Размер выборки для промежуточного анализа эффективности рассчитывали с учётом следующих правил и допущений: мощность статистических критериев принималась равной 80%; вероятность ошибки первого рода — менее 5%; используемые статистические критерии являлись двусторонними; на основании предполагаемого эффекта минимально необходимый размер выборки для промежуточного анализа составил 160 пациентов. В связи с запланированным промежуточным анализом по методу Haybittle-Peto, величина ошибки первого рода (α) вместо стандартного $p=0,05$ была установлена на более консервативном уровне в размере $p=0,0294$; все результаты рассматривались как значимые лишь в том случае, если величина « p » была равна или меньше этой величины.

Применялись стандартные методы частотного анализа: критерий χ^2 и модификация Cochran-Mantel-Haenszel критерия

рия χ^2 для множественных сравнений (СМН χ^2); анализ непрерывных переменных осуществлялся с использованием двухвыборочного *t*-критерия Стьюдента с учётом равных или неравных дисперсий; многофакторный анализ непрерывных и полиномиальных переменных проводился с использованием обобщённых линейных моделей (GENMOD, generalized linear models).

Обработка данных и все статистические расчёты производились с использованием статистического пакета SAS-9.3.

Группы пациентов. По окончании процедур скрининга пациент рандомизировался в одну из двух групп: пациенты 1 группы ($n=82$) получали Эргоферон; пациенты 2 группы ($n=80$) — плацебо. Схема приёма Эргоферона/плацебо: внутрь, вне приёма пищи; на один приём — 1 мерную ложку (5 мл); в первые 2 часа препарат принимали каждые 30 минут, затем в течение первых суток осуществляли ещё три приёма через равные промежутки времени; со 2-х по 5-е сутки — по 1 мерной ложке 3 раза в день.

Распределение пациентов в ту или иную группу терапии проводилось случайным образом с помощью специальной Интерактивной Голосовой Системы с возможностью Веб-доступа; пациенту присваивался рандомизационный номер в целях сохранения конфиденциальности; каждый пациент был рандомизирован только один раз в ходе исследования.

Обе группы участников исследования исходно были сопоставимы по основным демографическим и клинико-лабораторным характеристикам. 35% участников имели различные сопутствующие заболевания, в том числе, бронхиальную астму и аллергический ринит в периоде ремиссии (всего 8%); хроническую патологию ЛОР-органов и аденоидные вегетации (4%); болезни костно-мышечной системы (9%), болезни органов пищеварения (4%), кровообращения (3%), мочеиспускания (2%), кожи (3%).

Исходно средний суммарный балл ОРИ, по оценкам врача, был $14,3 \pm 4,2$ балла в группе Эргоферона и $15,5 \pm 4,2$ балла в группе плацебо; по данным дневника пациента — $13,0 \pm 4,5$ и $14,8 \pm 4,6$ балла соответственно. Разрешённые жаропонижающие препараты в первый, реже второй, день ОРИ принимали 61% пациентов; сосудосуживающие назальные капли и спреи — 94%, местные антисептические растворы и пастилки — 59%; экспекторанты — 29%. Пять детей (3%; 3 из группы Эргоферона и 2 из группы плацебо) получали ингаляционные препараты базисной терапии бронхиальной астмы (топические глюкокортикостероиды, кромоны, β_2 -агонисты).

Результаты проведённого теста на беременность среди сексуально активных девочек-подростков ($n=4$; 2,5%) были отрицательными у всех пациенток. Один пациент из группы плацебо использовал барьерный метод контрацепции во время участия в исследовании и в течение 30 дней после его завершения (в соответствии с требованиями протокола).

В ходе исследования не выбыло ни одного пациента, 2 пациента были исключены из анализа эффективности (оба из группы Эргоферона в связи с приёмом препаратов комбинированного состава для симптоматической терапии ОРИ, относящихся к списку запрещённых). Полностью завершили участие в исследовании в соответствии с процедурами протокола 160 пациентов, их данные вошли в окончательный анализ эффективности (Per Protocol-анализ), в том числе 80 — группы Эргоферона и 80 — группы плацебо.

Оценку безопасности и переносимости исследуемой терапии проводили у всех пациентов, включённых в исследование и получивших хотя бы одну дозу исследуемого препарата ($n=162$).

Результаты и обсуждение

В результате лечения Эргофероном на второе утро количество пациентов с выздоровлением/значимым улучшением составило 6%, на 3-е — 20% и на 4-е — 58% (против 1, 14 и 35% в группе

плацебо соответственно) (рис. 1). Частотный анализ (СМН χ^2), проведённый для пяти пар утренних измерений, подтвердил, что процент выздоровевших пациентов на фоне применения Эргоферона был существенно выше, чем в группе плацебо ($\chi^2=9,7$; $p=0,002$). Оценка выраженности симптомов ОРИ в вечернее время показала сходную динамику. Начиная с вечера второго дня, количество реконвалесцентов прогрессивно нарастало и составило на 2 сутки 14%, на 3-и — 29% и на 4-е — 61% (против 5, 14 и 44% на фоне плацебо-терапии). Частотный анализ пяти пар вечерних измерений также подтвердил значимое превосходство эффективности терапии Эргофероном ($\chi^2=12,0$; $p=0,001$). Оценка суммарных значений в течение дня, то есть процента пациентов с окончательным купированием всей симптоматики ОРИ по данным анализа критерия СМН, дала ещё более убедительный вывод: $\chi^2=21,7$; $p<0,0001$. Сравнение итогов лечения на третий ($\chi^2=5,8$; $p=0,016$) и четвёртый ($\chi^2=12,8$; $p=0,0004$) дни подтвердило значимость различий между группами. Таким образом, после трёх дней применения Эргоферона, на 4-й день от начала болезни более чем у половины детей (61%) отмечалась ликвидация симптомов заболевания. Полученные результаты позволяют утверждать, что лечение Эргофероном приводило к более быстрому, по сравнению с плацебо, выздоровлению детей, изначально имевших выраженную симптоматику ОРИ.

Оценка вторичных критериев эффективности включала несколько конечных точек. Принимая во внимание, что лихорадка — значимый клинический маркёр при ОРИ, был проведён анализ динамики температурной реакции на 2—5 дни лечения. Уже на второй день лечения Эргофероном у большинства детей фебрильная температура снизилась до субфебрильной (средние значения утром и вечером — $37,4 \pm 0,6^\circ\text{C}$); утром второго дня четвертая часть пациентов имела температуру тела $\leq 37,0^\circ\text{C}$, к вечеру этот процент увеличился до 30% (против 13 и 15% в группе плацебо соответственно). На третий день терапии более половины пациентов группы Эргоферона имели нормальные значения температуры тела: утром — 64% ($\chi^2=9,2$; $p=0,002$); вечером — 66% ($\chi^2=17,9$; $p<0,001$), средние значения — $36,9 \pm 0,4^\circ\text{C}$ и $37,0 \pm 0$ соответственно. В группе плацебо динамика лихорадки была менее отчётливой, средние значения температуры на 3 и 4 сутки были выше, чем в группе Эргоферона, а полная нормализация наступила на 4-й день (средние значения: утром — $36,7 \pm 0,3$; вечером — $36,8 \pm 0,3^\circ\text{C}$). С учётом конечной точки $\leq 37,2^\circ\text{C}$ процент не лихорадящих больных в группе Эргоферона на второй день был 43% утром и вечером (против 25% утром и 19% вечером в группе плацебо; $\chi^2=10,6$; $p=0,012$), на третий — 83% утром и 84% вечером (против 60 и 54% в группе плацебо соответственно; $\chi^2=16,7$; $p=0,001$).

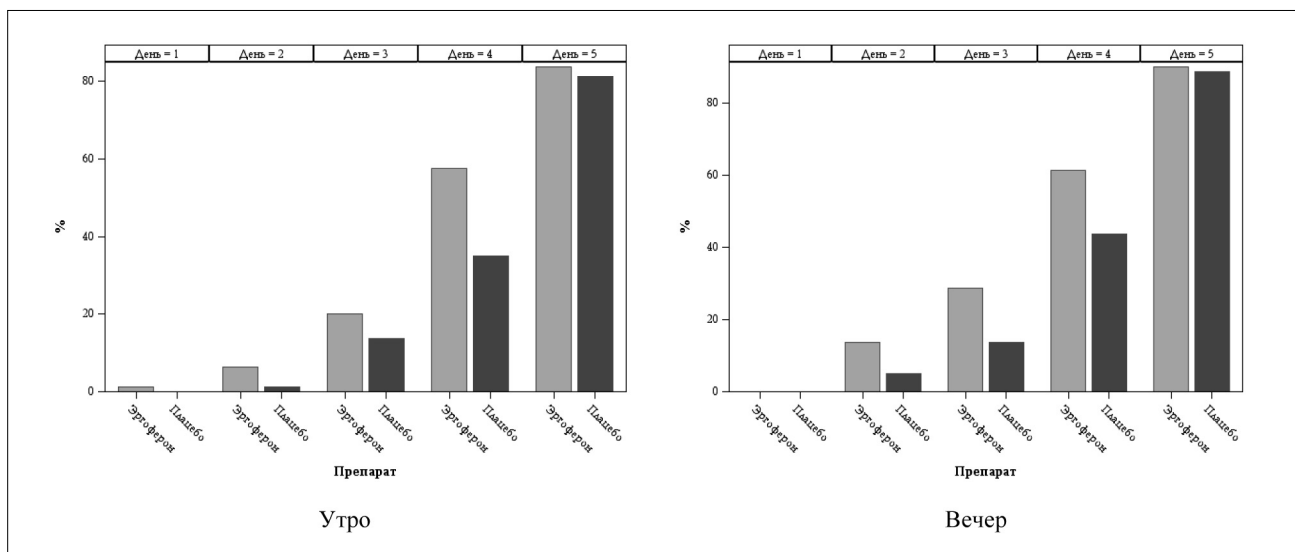


Рис. 1. Число пациентов (в %) с выздоровлением/улучшением на фоне лечения Эргоферон.

Анализ динамики температурной реакции с помощью GENMOD показал, что высокостатистически достоверными были все три исследованных фактора (Препарат [2 уровня] — $\chi^2=14,4$; $p<0,001$; Время суток [2 уровня] — $\chi^2=16,5$; $p<0,001$; День лечения [5 уровней] — $\chi^2=153,7$; $p<0,001$) и их взаимодействие: Препарат и День лечения ($\chi^2=16,7$; $p=0,002$); Время суток и День лечения ($\chi^2=23,6$; $p<0,001$). Таким образом, статистический анализ подтвердил достоверность различий между группами Эргоферона и плацебо по следующим позициям: 1) в группе Эргоферона значимо эффективнее (до более низких цифр), чем в группе плацебо, снижалась температура тела; 2) Эргоферон быстрее, по сравнению с плацебо, оказывал влияние на лихорадку — основной маркер вирусемии; 3) превосходство Эргоферона над плацебо-терапией было значимо и по утренним, и по вечерним показателям в течение всех пяти дней терапии.

Пост-хок анализ (метод Бонферони) выявил достоверные различия между группами Эргоферона и плацебо на второй ($\chi^2=3,7$; $p=0,009$) и третий ($\chi^2=4,2$; $p=0,001$) дни лечения, что дополнительно подтверждало быстрый эффект препарата.

Анализ изменений СИ на фоне лечения свидетельствовал о том, что мнения и взрослого, ухаживающего за ребенком (либо самого пациента ≥ 14 лет), и врача о выраженности симптомов ОРИ практически совпадали в те дни, когда была возможность их сравнить (на 1 и 3 дни наблюдения). Начиная со второго дня лечения Эргоферон, выраженность симптомов заболевания прогрессивно снижалась. По данным дневника пациента, СИ от исходного в $13,0 \pm 4,5$ балла снизился до $7,9 \pm 4,8$ на второй день и до $1,1 \pm 1,2$ на пятый; эта динамика снижения была значимо

лучшей, чем в группе плацебо; двухфакторный анализ GENMOD выявил значимость обоих факторов (День лечения: $\chi^2=144,7$; $p<0,0001$; Препарат: $\chi^2=9,3$; $p=0,002$), а также значимое их взаимодействие (День лечения и Препарат: $\chi^2=11,0$; $p<0,0001$). По результатам объективного осмотра врача на третий день выраженность клинических проявлений ОРИ также была значимо меньшей, по сравнению с первыми сутками болезни. СИ в группе Эргоферона от исходных $14,3 \pm 4,2$ балла снизился до $4,9 \pm 3,0$ балла (против $15,5 \pm 4,2$ и $6,1 \pm 3,4$ балла в группе плацебо соответственно; $\chi^2=146,9$; $p<0,0001$). По данным осмотра врачом на 6 день от начала болезни все пациенты группы Эргоферона не имели симптомов заболевания и были признаны здоровыми. Таким образом, анализ динамики СИ подтвердил терапевтическую эффективность Эргоферона; наиболее выраженный эффект лечения отмечался на 2 и 3 сутки лечения, что свидетельствовало о максимальном действии препарата в ранние сроки, в период наиболее тяжелого течения болезни.

Анализ влияния Эргоферона на длительность течения симптомов ОРИ доказал выраженную эффективность препарата, прежде всего, в отношении лихорадки и других проявлений синдрома интоксикации. Продолжительность лихорадочного периода у детей на фоне приема Эргоферона в среднем составила $1,9 \pm 0,8$ дня, что было существенно меньше, чем в группе плацебо ($2,5 \pm 0,8$ дня; $p<0,0001$). В целом длительность ОРИ у пациентов, получавших Эргоферон, была $3,3 \pm 1,1$ дня, что также достоверно короче, чем у пациентов второй группы ($t=-2,3$; $p=0,021$).

Сравнение тяжести течения ОРИ с помощью математической модели «площадь под кривой» для СИ выявило значимые различия в двух группах. По

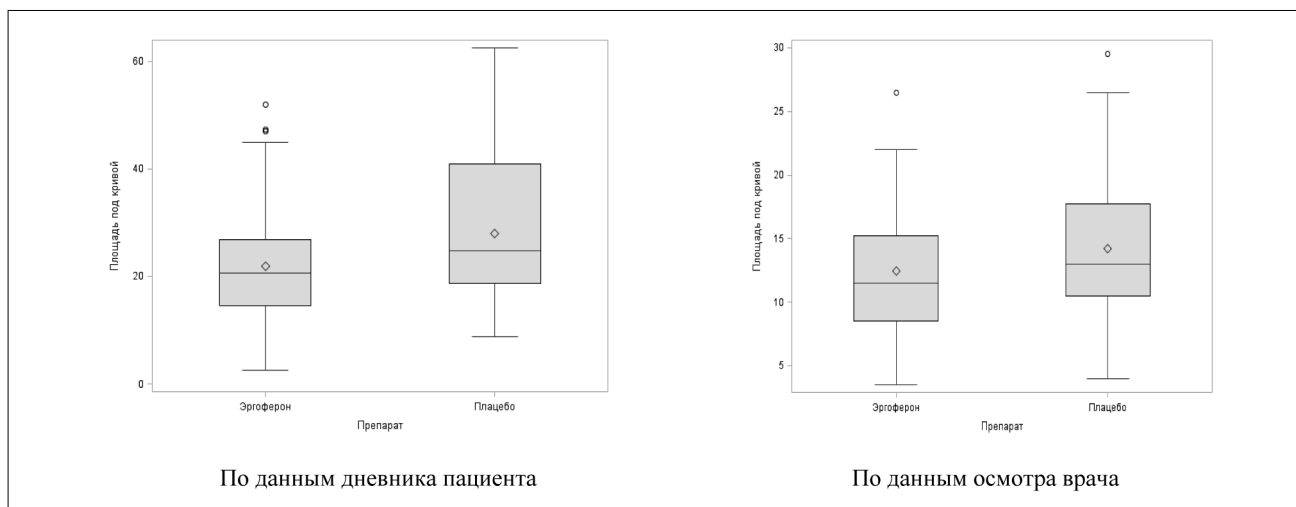


Рис. 2. Влияние Эргоферона на тяжесть течения ОРВИ (площадь под кривой для суммарного индекса).

Условные обозначения на графиках: ромб внутри прямоугольника — среднее арифметическое в группе; горизонтальная черта внутри прямоугольника — медиана; верхняя и нижняя стороны прямоугольника — границы 1-го и 3-го квартилей; нижние и верхние горизонтальные отрезки — минимум и максимум значения; круг вне прямоугольника — статистический выброс.

данным дневника пациента, площадь под кривой в группе Эргоферона составила $21,9 \pm 10,9$ СИ $\times$ Дни, и она была достоверно меньше, чем аналогичный показатель в группе плацебо ($28,0 \pm 13,0$ СИ $\times$ Дни; $p < 0,002$), что видно на графике (рис. 2). Это означает, что течение ОРВИ у детей на фоне применения Эргоферона было значимо более лёгким. Площадь под кривой, по данным осмотра врачом, у детей группы Эргоферона также была достоверно меньше, чем у больных, получавших плацебо ($12,4 \pm 4,7$ против $14,2 \pm 5,2$ СИ $\times$ Дни; $p = 0,023$), и это также свидетельствовало о значительно меньшей тяжести всех проявлений респираторной инфекции на фоне лечения Эргофероном. Таким образом, результаты данного анализа свидетельствуют о значимом превосходстве Эргоферона над плацебо-терапией; приём препарата способствовал более лёгкому течению острого инфекционно-воспалительного процесса в респираторном тракте у детей.

Следствием снижения тяжести лихорадки и общеинтоксикационных проявлений на фоне лечения Эргофероном было уменьшение частоты приёма жаропонижающих препаратов. Антипиретики в первый день лечения были назначены 68% детей группы Эргоферона; в группе плацебо таких детей было на 21% больше (89%). На второй день процент детей, нуждавшихся в антипиретиках, составил 9% и 12% соответственно.

В ходе исследования ни у одного пациента не было зарегистрировано ни одного случая ухудшения заболевания либо развития осложнений, требующих антибактериальной терапии или госпитализации. Все пациенты закончили участие в исследовании выздоровлением от ОРВИ.

Таким образом, итоги исследования подтвердили полученные ранее и широко опубликован-

ные данные многочисленных исследований об эффективности Эргоферона в лечении пациентов с инфекционными заболеваниями дыхательных путей [4—14]. Результаты данного клинического испытания свидетельствуют о терапевтической эффективности жидкой лекарственной формы Эргоферона в лечении детей с ОРВИ различной этиологии. Известно, что большинство острых респираторных заболеваний в период подъёма сезонной заболеваемости вызываются вирусами, подавляющими защиту клетки от инфекции [29, 30]. Эргоферон обеспечивает воздействие на универсальные механизмы противовирусной защиты, которые играют ключевую роль в развитии иммунного ответа независимо от типа вируса, а именно систему интерферона и CD4+ клеток. Комбинация анти-IFN γ +анти-CD4 индуцирует продукцию эндогенного IFN γ , активирует функциональное состояние рецепторов IFN γ и CD4+ и лиганд-рецепторное взаимодействие, активность CD4+ клеток, в том числе антигенпрезентирующих (макрофагов и дендритных клеток) и Т-хелперов (Th1 и Th2) [17—22, 30—32]. Неспецифическая противовирусная активность первых двух компонентов Эргоферона, дополненная эффектами анти-Н, обеспечивает эффективность препарата, прежде всего, в отношении главных, ассоциированных с вирусемией и развивающихся вследствие неё, синдромов — лихорадочного и общеинтоксикационного. Быстрый эффект препарата помогает выздоравливать пациентам в более короткие сроки, а также снижает тяжесть течения ОРВИ, особенно на ранних этапах болезни.

Результаты исследования подтвердили высокий уровень безопасности Эргоферона в виде раствора для приёма внутрь, используемого по лечеб-

ной схеме у детей с ОРИ. Всего в течение периода лечения и наблюдения было зарегистрировано 3 нежелательных явления (НЯ) у двух пациентов (по одному из каждой группы). Все НЯ были лёгкой степени. 2 НЯ в группе Эргоферона (кратковременные ушная боль при глотании и незначительное головокружение в момент приёма препарата) и 1 НЯ в группе плацебо (однократный разжиженный стул на фоне погрешности в питании) не имели связи с исследуемой терапией и не потребовали отмены препарата. Мониторинг биохимических и общеклинических показателей крови и мочи не выявил отклонений от нормальных значений. Сочетанное использование Эргоферона с препаратами для симптоматической терапии ОРИ (антипиретиками, деконгестантами, экспекторантами), а у некоторых пациентов — с ингаляционными глюкокортикостероидами, препаратами кромоглициевой кислоты, антагонистами лейкотриеновых рецепторов, бета-2-агонистами короткого действия, не приводило к проявлениям фармакологической несовместимости, антагонистическому или взаимно усиливающему действию. Оценка комплаентности, проведённая на последнем визите, продемонстрировала 100% уровень приверженности пациентов к назначенной терапии.

Заключение

Применение Эргоферона способствовало выздоровлению значимо большего процента детей с ОРИ в более короткие сроки, по сравнению с плацебо-терапией, что подтверждено результатами статистического анализа с применением консервативных (наиболее строгих) критериев оценки. Наиболее отчётливые эффекты были продемонстрированы в отношении лихорадки и других проявлений общеинтоксикационного синдрома. В условиях двойного слепого плацебо-контроля доказано, что Эргоферон значимо эффективнее (до более низких цифр) и быстрее снижал температуру тела. Средняя продолжи-

тельность лихорадочного периода на фоне применения Эргоферона составила $1,9 \pm 0,8$ дня. Максимальное действие препарата проявлялось в ранние сроки от начала применения Эргоферона — период максимальной выраженности симптомов. Начиная со второго дня, суммарный клинический индекс ОРИ существенно снижался, а средняя длительность заболевания у пациентов, получавших Эргоферон, была значимо меньше, чем в группе плацебо. Быстрый эффект Эргоферона не только помогал выздоравливать пациентам в более короткие сроки, но и снижал тяжесть течения ОРИ на протяжении всего периода лечения, особенно на ранних этапах, что подтверждалось результатами анализа «площади под кривой» для суммарного индекса заболевания. Следствием снижения тяжести лихорадки и общеинтоксикационных проявлений на фоне лечения Эргофероном было уменьшение частоты приёмов жаропонижающих препаратов, особенно в первый день терапии Эргофероном. На фоне применения препарата не зарегистрировано случаев развития бактериальных осложнений или ухудшения течения заболевания, а также обострений сопутствующей аллергической и хронической ЛОР патологии. Все пациенты закончили участие в исследовании выздоровлением. Высокий уровень безопасности Эргоферона подтверждён отсутствием зарегистрированных нежелательных явлений, имеющих связь с исследуемой терапией. Мониторинг биохимических и общеклинических показателей крови и мочи не выявил отклонений от нормальных значений. Эргоферон хорошо сочетался с лекарственными средствами различных классов. Пациенты детского возраста хорошо переносили препарат и продемонстрировали высокую приверженность лечению. Таким образом, новая жидкая лекарственная форма Эргоферона, разработанная специально для детей, является эффективным и безопасным препаратом для лечения острых респираторных инфекций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лекарственные средства для детей. ВОЗ. Информационный бюллетень № 341. Июнь 2010 г. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs341/ru/>
2. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Clinical Investigation of Medicinal Products in the Pediatric Population (E11). Current Step 4 version, July 2000; 12.
3. *Генне Н.А., Волков И.К.* Актуальные вопросы детской пульмонологии в России. Вест Росс акад мед наук 2008; 10: 32—34.
4. *Аверьянов А.В., Бабкин А.П., Барт Б.Я. и др.* Эргоферон и Осельтамивир в лечении гриппа — результаты многоцентрового сравнительного рандомизированного клинического исследования. Антибиотики и химиотер 2012; 57: 7—8: 23—30.
5. *Веревищев В.К., Борзунов В.М., Шемякина Е.К.* Оптимизация этиопатогенетической терапии гриппа и ОРВИ у взрослых при применении эргоферона. Антибиотики и химиотер 2011; 56: 9—10: 23—26.
6. *Княжеская Н.П., Баранова И.А., Фабрика М.П., Белевский А.С.* Новые возможности лечения и профилактики ОРВИ у пациентов с хроническими обструктивными заболеваниями лёгких. Атмосфера. Пульмонология и аллергология 2012; 3: 46: 37—40.
7. *Княжеская Н.П., Баранова И.А., Фабрика М.П., Татарский А.Р.* Релиз-активные антитела в борьбе с простудой и гриппом. Фарматека 2013; 4: 257: 27—31.
8. *Костинов М.П.* Новый препарат для лечения гриппа и острых респираторных вирусных инфекций. Инфекц бол 2011; 9: 4: 29—34.
9. *Орлова Н.В.* Современные подходы к лечению гриппа. Фарматека 2012; 17: 250: 72—74.
10. *Пескова Ю.* В поисках новых препаратов для лечения гриппа и ОРВИ. Арх внутр мед 2013; 6: 14: 46—46.
11. *Сидорова Л.Д., Бабанова С.А.* Клиническая фармакология современного противовирусного препарата Эргоферон и его место в лечении острых респираторно-вирусных инфекций и гриппа. Справ поликлин врач 2013; 12: 38—41.
12. *Шестакова Н.В., Загоскина Н.В., Самойленко Е.В., Минакова Е.Ю., Судакова А.П., Нургалиева Р.Н.* Эффективность и безопасность применения Эргоферона в комплексной терапии внебольничных пневмоний. Доктор.ру, 2012; 8: 76: 44—47.

13. Шиловский И.П., Корнилова Г.В., Хаитов М.Р. Новые возможности в терапии респираторно-синцитиальной вирусной инфекции: данные доклинического исследования препарата «Эргоферон». Иммунология 2012; 33: 3: 144—148.
14. Sergeeva S.A., Martyushev-Poklad A.V., Petrov V.I. et al. Anaféron, oral anti-interferon gamma antibodies for treatment and prophylaxis of viral infections. Clin Exper Pharmacol Psychol 2004; 31, Suppl 1: 114—14.
15. Волков И.К., Генне Н.А. Применение релиз-активных препаратов на основе антител к интерферону гамма в лечении и профилактике респираторных инфекций у детей. Трудный пациент 2014; 2: 5: 10—16.
16. Кондюрина Е.Г. Анаферон детский в лечении и профилактике гриппа и ОРВИ у детей в современных условиях. Обоснование и существующие возможности. Поликлиника 2009; 6: 118—119.
17. Эпштейн О.И., Бельский Ю.П., Шерстобоев Е.Ю., Агафонов В.И., Мартюшев А.В. Механизмы иммуотропных свойств потенцированных антител к человеческому интерферону- γ . Бюл экспер биол. Приложение № 3, 2001: 34—36.
18. Эпштейн О.И., Дугина Ю.Л., Качанова М.В., Тарасов С.А., Хейфец И.А., Белопольская М.В. Противовирусная активность сверхмалых доз антител к гамма-интерферону. Вест международ акад наук (Русская Секция) 2008; 2: 20—23.
19. Tarasov S., Dugina Y., Sergeeva S., Epstein O. Oral antibody to interferon gamma in ultra low doses: clinical efficacy and interferon stimulation in patients with upper respiratory viral infections. Fundament Clin Pharmacol 2008; 22, Suppl 2: 37.
20. Tarasov S.A., Zarubaev V.V., Gorbunov E.A. Activity of ultra-low doses of antibodies to gamma-interferon against lethal influenza A(H1N1)2009 virus infection in mice. Antiviral Res 2012; 93: 2: 219—224.
21. Эпштейн О.И. Феномен релиз-активности и гипотеза «пространственного» гомеостаза. Успех физиол наук 2013, 44: 3: 54—76.
22. Эпштейн О.И., Штарк М.Б., Дыгай А.М. и др. Фармакология сверхмалых доз антител к эндогенным регуляторам функций. М.: Издательство РАМН. — 2005.
23. Жавберт Е.С., Дугина Ю.Л., Эпштейн О.И. Противовоспалительные и противоаллергические свойства антител к гистамину в релиз-активной форме: обзор экспериментальных и клинических исследований. Дет инфекц 2014; 1: 40—43.
24. Зак М.С. Экспериментальное исследование противокашлевой активности сверхмалых доз антител к морфину и медиаторам воспаления (брадикинин, серотонин, гистамин). Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.: 2003; 24.
25. Carleton E., Fry B., Mulligan A., Bell A., Brossart C. Temporal artery thermometer use in the prehospital setting. CJEM 2012; 14: 1: 7—13.
26. Aindow A., Brook L. Essential Medicines List for Children (EMLc); Palliative Care. Consultation document. World Health Organisation. 2008; 116.
27. Лихорадочные синдромы у детей. Рекомендации по диагностике и лечению / Под ред. А.А. Баранова, В.К. Таточенко, М.Д. Бакрадзе. М.: Союз педиатров России, 2011; 228.
28. Клинические рекомендации. Педиатрия. Лихорадка / Под ред. А.А. Баранова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. 272 с.
29. Tecu C., Mihai M.E., Alexandrescu V.I. et al. Single and multipathogen viral infections in hospitalized children with acute respiratory infections. Roum Arch Microbiol Immunol 2013; 72: 4: 242—249.
30. Еришов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы. М.: Гэотар-Медиа 2005; 356.
31. Ellis T.N., Beaman B.L. Interferon-gamma activation of polymorphonuclear neutrophil function. Immunology. 2004; 112: 2—12.
32. Chapman, T. J., M. R. Castrucci, R. C. Padrick, L. M. Bradley, and D. J. Topham. Antigen-specific and non-specific CD4 T cell recruitment and proliferation during influenza infection. Virology 2005; 340: 296—306.

Комплексная терапия пациентов с распространёнными формами туберкулёза лёгких с применением меглума акридонацетата

Н. С. ПРАВАДА, А. М. БУДРИЦКИЙ, Д. С. СУХАНОВ

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, Витебск, Республика Беларусь

Meglumine Acridonacetate and Complex Therapy of Patients with Newly Identified Advanced Pulmonary Tuberculosis

N. S. PRAVADA, A. M. BUDRITSKY, D. S. SUKHANOV

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic Belarus

В настоящей статье проведена оценка клинико-иммунологической эффективности комплексного лечения впервые выявленных пациентов с распространёнными формами туберкулёза лёгких с применением меглума акридонацетата (циклоферон) в таблетках. Установлено, что применение в комплексной терапии циклоферона, по предложенной нами схеме, повышает эффективность терапии (более раннее исчезновение симптомов заболевания и бактериовыделения, сокращение сроков закрытия полостей распада, более выраженная положительная рентгенологическая динамика по сравнению с пациентами, получающими только этиотропную терапию), нормализует количество рецепторов к интерферону гамма, увеличивает количество интерферона гамма в сыворотке крови, снижает частоту побочных эффектов (поражения печени) во время приёма противотуберкулёзных лекарственных средств, является экономически эффективным. Использование циклоферона в комплексной терапии пациентов с распространёнными формами туберкулёза лёгких возможно на амбулаторном этапе.

Ключевые слова: меглума акридонацетат, циклоферон, туберкулёз, противотуберкулёзные лекарственные средства, эффективность лечения.

Clinical and immunological efficacy of meglumine acridonacetate (cycloferon) tablets was evaluated in complex treatment of patients with newly diagnosed advanced pulmonary tuberculosis. It was shown that the use of cycloferon according to our scheme increased the efficacy of the therapy (earlier disappearance of the disease symptoms and bacteria isolation, shorter terms of cavern healing, more pronounced positive radiographic dynamics vs. the patients under the etiotropic therapy). The use of cycloferon normalized the number of gamma interferon receptors, increased the gamma interferon serum levels, reduced the incidence of the side effects (liver damage) due to the use of TB drugs. Such a use of cycloferon was cost effective. The use of cycloferon is possible in the complex treatment of outpatients with advanced pulmonary tuberculosis.

Key words: meglumine acridonacetate, cycloferon, tuberculosis, TB drugs, treatment, efficacy.

Введение

Проблемы, связанные с туберкулёзом, актуальны во всём мире [1]. По мнению ряда авторов [2–4], распространённые формы туберкулёза имеют тенденцию к длительному течению, часто протекают с осложнениями и зачастую приводят к рецидивам болезни.

Доказано, что при распространённых формах туберкулёза имеет место нарушение баланса цитокинов [5–8]. Интерферон гамма (ИФН γ) является мощным активатором макрофагов. В случае недостаточной его продукции заболевание протекает значительно тяжелее [9]. Учитывая то, что у пациентов с распространёнными формами туберкулёза снижается способность клеток к продукции ин-

терферона, лечение таких пациентов требует своевременной коррекции иммуностропными препаратами. Перспективным направлением иммунотерапии в комплексном лечении туберкулёза в настоящее время является использование индукторов интерферона [2]. Данные препараты обладают способностью включать систему интерферона благодаря синтезу собственных интерферонов в клетках человека [2, 5]. Из индукторов интерферона с основной интерферониндуцирующей активностью пригодны для клинического применения ограниченное количество препаратов. Один из них — меглума акридонацетат. Данный препарат является ранним индуктором интерферона 1 и 2 типов, прямо и опосредованно действует на разные звенья иммунитета [2]. Меглума акридонацетат, меняя метаболизм в купферовских клетках и гепатоцитах, повышает их устойчивость к повреждающему действию противотуберкулёзных

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: e-mail: provada@mail.by

лекарственных средств (ПТЛС) [10]. Интерферонная активность меглума акридоната сохраняется в течение 3 суток, что обуславливает кратность его приёма и не требует многократного, в том числе парентерального, введения, в отличие от экзогенных интерферонов [2, 3]. В таблетированной форме при лечении распространённых форм туберкулёза меглума акридоната в Белоруссии был использован нами впервые.

Цель исследования — оценка эффективности использования меглума акридоната в комплексной терапии пациентов с распространёнными формами туберкулёза лёгких.

Материал и методы

Для решения поставленной задачи было пролечено 300 пациентов на базах Витебского областного противотуберкулёзного диспансера, областной Богуславской туберкулёзной больницы, Республиканской туберкулёзной больницы «Сосновка» по разработанной нами схеме. На фоне основного лечения ПТЛС, согласно режиму химиотерапии (приказ МЗ РБ № 939 от 22.08.2012 г.), пациенты получали меглума акридоната (циклоферон) в таблетках по схеме 600 мг 3 раза в неделю утром натощак за 30 мин до еды в течение 3 месяцев. Циклоферон разрешён к применению в Беларуси (регистрационный номер № 4999/01/08/13 от 28.08.2013 г.). Имеются отдельные данные о парентеральном применении данного препарата при туберкулёзе в России, на Украине и в Белоруссии [11, 12]. На наш взгляд, приём препарата в таблетированной форме более удобен, безопасен и может быть использован не только на стационарном, но и на амбулаторном этапе, исключая развитие парентеральных осложнений. В России данный препарат в таблетках применялся в пенетентциарной системе при лечении туберкулёза в течение 2 мес по схеме 0,3—0,6 г перорально в 1-, 2-, 4-, 6-, 8-, 11-, 14-, 17-, 20-, 23-й дни и далее 3 раза в неделю [3]. На наш взгляд, частый приём препарата в 1-й мес терапии, а далее 3 раза в неделю является нецелесообразным, а сроки приёма до 2 мес недостаточными. Кроме того, в России действовали свои протоколы лечения туберкулёза, и однозначно сравнить результаты затруднительно. Обоснованием оптимальной (в течение 3 мес) длительности использования меглума акридоната явилось изучение уровня рецепторов к интерферону гамма на моноцитах и анализ уровня интерферона гамма в сыворотке крови у пациентов с распространёнными формами туберкулёза лёгких. Оценка результатов исследования проводилась на основании клинических, рентгенологических данных, данных лабораторных анализов крови, оценки сроков прекращения бактериовыделения, оценки уровня рецепторов к интерферону гамма на моноцитах, анализе уровня ИФН γ в сыворотке крови. Проведена оценка экономической эффективности комплексного лечения пациентов с распространёнными формами туберкулёза по предложенной нами схеме. Анализ количества рецепторов к ИФН γ на моноцитах проводился методом проточной цитометрии на аппарате BeckmanCoulterFC 500. В качестве реактивов использовалась тест-система фирмы «Инвитроген» CD45CD14CD119. Исследовалась цельная кровь пациентов. Количество ИФН γ в сыворотке крови определялось методом ИФА с использованием набора фирмы Вектор-Бест. При рандомизации блочным методом выбрано 78 историй болезни пациентов с впервые выявленными распространёнными формами туберкулёза лёгких. Сформировано 3 группы. В основную группу (ОГ), в количестве 39 человек, вошли пациенты, получающие комплексное лечение (ПТЛС и меглума акридоната). Группу сравнения (ГС) составили пациенты, получающие только ПТЛС — 39 человек. Контрольную группу (КГ), для оценки уровня внутрила-

бораторной нормы иммунологических показателей, составили 24 условно здоровых донора. Анализ полученных результатов проведён при помощи программы Статистика 6.1. При нормальном типе распределения оценивалось среднее значение и стандартное отклонение. При распределении, отличном от нормального, полученные данные записаны в виде формулы Медиана (25 квартиль; 75 квартиль). Для оценки результатов статистической обработки данных научных исследований использовали пороговое значение показателя вероятности нулевой гипотезы (p) с использованием t критерия Стьюдента при нормальном распределении и критерия Манна-Уитни при распределении, отличном от нормального. Качественные показатели сравнивались с использованием точного критерия Фишера и Хи-квадрата. Результаты оценивались как статистически значимые при ($p \leq 0,05$).

Среди пациентов с распространёнными формами туберкулёза лёгких преобладали мужчины (84,6% в ОГ и 89,7% в ГС). Пациенты ОГ были в возрасте от 18 до 66 лет (в среднем $42,7 \pm 11,4$ лет). Возраст пациентов ГС составил от 18 до 70 лет (в среднем $45,4 \pm 12,5$ лет). В ОГ диагноз инфильтративный туберкулёз поставлен 32 человекам, в ГС — 31 пациенту. Диагноз диссеминированного туберкулёза поставлен 6 пациентам ОГ и 5 пациентам ГС. Во всех случаях площадь поражения составила более 2 сегментов. Чувствительность к ПТЛС была сохранена у 12 человек ОГ и у 15 человек ГС. Наличие лекарственной устойчивости микобактерий туберкулёза (МБТ) к ПТЛС в виде монорезистентности или полирезистентности выявлено у 18 человек в ОГ и у 12 человек в ГС. Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) — у 7 пациентов ОГ и у 12 пациентов ГС. Широкая лекарственная устойчивость (ШЛУ) — у 2 пациентов ОГ.

Результаты и обсуждение

У пациентов основной группы (ОГ) симптомы заболевания исчезли в более ранние сроки, по сравнению с пациентами группы сравнения (ГС). Кашель прекратился в ОГ у 96,7% пациентов через 14 (7; 20) дней. У пациентов ГС прекращение кашля отмечено у 90% через 14 (9; 22) дней. Статистически значимо длительность кашля не отличалась в обеих группах ($p=0,44$), хотя через 1 мес лечения кашель отсутствовал у 80% пациентов в ОГ и только у 73,3% пациентов в ГС. У пациентов без МЛУ через 1 мес лечения кашель прекратился у 91,3% пациентов ОГ и у 71,4% ГС. Одышка прекратилась к концу лечения у 93,3% пациентов в ОГ и только у 70% пациентов ГС. У пациентов без МЛУ одышка прекратилась к концу лечения в 100% случаев в ОГ и только в 57,1% случаев в ГС ($p=0,027$). Через 1 мес от начала лечения одышка прекратилась у 60% пациентов ОГ и только у 40% пациентов ГС ($p>0,05$). Длительность симптомов интоксикации составила 14,5 (7,5; 30,5) дней в ОГ и 20 (12; 58) дней в ГС. Исчезновение симптомов интоксикации через 14 дней отмечалось у 57,1% пациентов ОГ и у 44,4% пациентов в ГС. Через 1 мес данный симптом отсутствовал у 81% человек в ОГ и у 66,7% человек в ГС. Исчезновение симптомов интоксикации у пациентов ОГ произошло в 1,4 раза раньше, чем у пациентов ГС. Через 1 мес лечения количество пациентов без симптомов интоксикации в ОГ на 14,3% больше, чем в ГС. В процессе лечения нор-

мализация температуры произошла у 94,7% пациентов ОГ и у 90,9% пациентов ГС. Через 7 дней лечения температура нормализовалась у 57,9% пациентов ОГ и только у 27,3% пациентов ГС. Нормализация температуры тела в ОГ отмечена раньше (в 2,7 раза), чем в ГС. У пациентов без МЛУ температура нормализовалась в процессе лечения в 100% случаев в обеих группах: через 5 (2; 18) дней в ОГ и через 14 (7; 91) дней в ГС. Нормализация температуры тела в ОГ отмечена статистически значимо раньше (в 2,8 раза), чем в ГС ($p=0,043$). Длительность болей в грудной клетке составила $10,9 \pm 8,3$ дня в ОГ и $10,3 \pm 7,4$ дня в ГС. По данному симптому обе группы статистически значимо не отличаются ($p>0,05$). Хотя у пациентов без МЛУ через 14 дней лечения боль в грудной клетке перестала беспокоить 83,3% пациентов в ОГ и только 66,7% пациентов в ГС. Хрипы в ОГ выслушивались в течение 11 (5; 23) дней и в ГС в течение 20,5 (10; 45) дней. Нормализация аускультативных проявлений в лёгких через 14 дней лечения в ОГ отмечалась у 50% пациентов, в ГС только у 37,5% пациентов. Через 1 мес лечения — в ОГ у 82,1% пациентов, а в ГС — только у 66,7% пациентов. Нормализация аускультативных проявлений в лёгких в ОГ отмечалась в 1,9 раз раньше, чем в ГС. У пациентов без МЛУ нормализация аускультативных проявлений в лёгких через 1 мес лечения отмечена у 100% пациентов в ОГ, а в ГС — только у 83,3% пациентов (Хи-квадрат 3,79, $p=0,05$).

В результате проведённого комплексного лечения нами было установлено, что у пациентов ОГ бактериовыделение прекратилось в более ранние сроки, чем у пациентов ГС, так как при микроскопии мазка мокроты кислотоустойчивые бактерии (КУБ) не обнаружены через 3 мес лечения в ОГ у 82,1% пациентов, в ГС — у 72,4% пациентов. К концу стационарного лечения негативация мокроты отмечалась у 96,4% пациентов в ОГ и 93,1% пациентов в ГС. Количество пациентов, у которых прекращение бактериовыделения подтверждено посевом на плотных питательных средах (ППС), несколько выше в ОГ (на 5,2%), чем в ГС. Однако бактериовыделение методом посева на ППС в ОГ прекратилось в 1,3 раза раньше, чем у пациентов ГС. Сроки абациллирования методом посева на ППС составили 34 (29; 60) дня в ОГ и 43,5 (30; 60) дня в ГС. Абациллировано (подтверждено посевом) 94,7% пациентов ОГ и только 89,5% пациентов в ГС. Через 1 мес лечения абациллировано 55,3% пациентов в ОГ и 44,7% — в ГС. Через 2 мес лечения — 73,7% в ОГ и 68,4% в ГС. Через 3 мес лечения — 81,6% в ОГ и 71,1% в ГС. К концу стационарного лечения — 94,7% в ОГ и 89,5% в ГС.

В ОГ положительная рентгенологическая динамика в процессе лечения отмечена у 37 человек

(94,9%), отрицательная рентгенологическая динамика — у 1 человека (2,6%), отсутствие рентгенологической динамики процесса — у 1 пациента (2,6%). Положительная рентгенологическая динамика в ГС наблюдалась только у 31 из 39 человек (79,5%), отрицательная рентгенологическая динамика — у 3 (7,7%) человек, рентгенологической динамики не отмечается — у 5 (12,8%) человек. Количество пациентов с положительной рентгенологической динамикой статистически значимо больше в ОГ (Хи-квадрат 4,13, $p=0,042$). Положительная рентгенологическая динамика в ОГ наблюдалась через 2 (2; 3) мес от начала лечения, что статистически значимо раньше ($p=0,0003$), чем в ГС — через 3 (2; 4) мес. За время наблюдения каверна закрылась у 62,1% пациентов в ОГ и только у 40% пациентов в ГС ($p=0,067$). Время закрытия каверны составило 2,75 (2; 4) мес в ОГ и 3,75 (3; 4) мес в ГС. Полости распада в лёгких закрылись раньше ($p=0,078$) на 1 мес у пациентов ОГ по сравнению с пациентами ГС. Статистически значимая разница видна уже через 2 мес лечения. Через 2 мес от начала лечения каверна закрылась у 9 человек ОГ (31%) и только у 1 человека (3,3%) ГС (Хи-квадрат 8,04, $p=0,0046$), через 3 мес лечения — у 12 человек (41,3%) в ОГ и у 6 человек (20%) ГС (Хи-квадрат 3,18, $p=0,074$).

По сравнению с показателями нормы и данными, полученными в КГ, у пациентов обеих групп отмечается лейкоцитоз при поступлении (в ОГ $8,2 (7,1; 9,9) \times 10^9$ в л, в ГС $8,8 (5,8; 11,2) \times 10^9$ в л) ($p<0,05$). Статистически значимо нормализация количества лейкоцитов отмечена только у пациентов ОГ к 3 мес лечения ($6,6 (5,5; 8) \times 10^9$ в л) при сравнении с данными, полученными в КГ ($p=0,13$). В ОГ выявлено достоверно значимое снижение лейкоцитов в процессе лечения уже через 1 мес лечения ко 2 мес ($7 (5,5; 9,3) \times 10^9$ в л) ($p=0,039$) и продолжение снижения до нормализации показателей к 3 мес лечения ($p=0,004$). У пациентов ГС статистически значимое снижение лейкоцитов начинается только со 2 мес лечения ($p=0,023$). Количество лейкоцитов в ГС статистически значимо больше, чем в КГ через 3 мес лечения ($7,5 (6; 9,6) \times 10^9$ в л) ($p=0,009$). В ОГ, по сравнению с показателями нормы, выявлена относительная (3 (1; 6)%) и абсолютная ($0,25 (0,14; 0,42) \times 10^9$ в л) эозинофилия через 1 мес лечения. Со 2-го мес лечения относительное (2 [1; 4]%) и абсолютное ($0,15 [0,07; 0,32] \times 10^9$ в л) количество эозинофилов не отличается от показателей нормы. В ГС выявлена абсолютная эозинофилия ($0,2 (0,08; 0,41) \times 10^9$ в л) через 3 мес лечения по сравнению с показателями нормы. Относительное количество палочкоядерных лейкоцитов снижается до нормы в ОГ через 2 мес лечения (4 [2; 6]%), а в ГС — через 3 мес лечения (3 [2; 6]%). У пациентов обеих групп относительное и абсо-

лютное количество палочкоядерных лейкоцитов статистически значимо больше, чем в КГ как при поступлении, так и в процессе 3 мес лечения ($p < 0,05$). Отмечено увеличение абсолютного количества сегментоядерных лейкоцитов при поступлении у пациентов обеих групп, по сравнению с нормой. В ОГ — $5,1 [3,7; 6,8] \times 10^9$ в л и в ГС — $4,8 [3,2; 6,8] \times 10^9$ в л. Статистически значимое снижение абсолютного количества сегментоядерных лейкоцитов происходит раньше в ОГ — после 1 мес лечения ($4,9 [2,8; 6,6] \times 10^9$ в л) по сравнению со 2 мес ($3,9 [3; 5,1] \times 10^9$ в л) ($p = 0,049$), по сравнению с 3 мес лечения ($3,7 [3; 4,9] \times 10^9$ в л) ($p = 0,007$); от момента поступления через 2 мес лечения ($p = 0,029$), через 3 мес лечения ($p = 0,0009$). В ГС статистически значимое снижение абсолютного количества сегментоядерных лейкоцитов происходит только через 2 мес лечения ($3,8 [3; 5,4] \times 10^9$ в л) ($p = 0,015$), по сравнению с данными, полученными при поступлении. При сравнении с данными, полученными при обследовании КГ, относительное количество сегментоядерных лейкоцитов не отличается от КГ в ОГ и в ГС как при поступлении, так и в процессе лечения ($p > 0,05$). По сравнению с показателями нормы, у пациентов ОГ и ГС отмечается небольшая относительная лимфопения при поступлении, при этом абсолютное количество лимфоцитов в пределах нормы. Отмечается статистически значимое увеличение относительного количества лимфоцитов в ОГ в динамике по сравнению с относительным количеством лимфоцитов при поступлении ($23 [16; 34]\%$) через 2 мес лечения ($30 [23; 35]\%$) ($p = 0,028$) и через 3 мес лечения ($29,5 [25; 35]\%$) ($p = 0,039$). В ГС в процессе лечения отмечен статистически значимый рост относительного количества лимфоцитов через 2 мес лечения ($29 [23; 37]\%$) ($p = 0,045$) и через 3 месяца лечения ($30 [23; 35]\%$) ($p = 0,002$), по сравнению с относительным количеством лимфоцитов при поступлении ($25 [17; 32]\%$) ($p = 0,01$). По сравнению с показателями нормы отмечается относительный моноцитоз у пациентов ГС через 3 мес лечения ($6 [2; 10]\%$). В ОГ относительное количество моноцитов в пределах нормы. Абсолютный моноцитоз, при сравнении с показателями нормы, выявлен у пациентов ОГ при поступлении ($0,53 [0,3; 0,78] \times 10^9$ в л) и через 1 мес лечения ($0,57 [0,35; 0,78] \times 10^9$ в л); в ГС — при поступлении ($0,53 [0,32; 0,88] \times 10^9$ в л), через 1 мес ($0,54 [0,35; 0,78] \times 10^9$ в л) и 3 мес ($0,41 [0,14; 0,76] \times 10^9$ в л) лечения. СОЭ у пациентов обеих групп превышает показатели нормы при поступлении и в процессе 3 мес лечения ($p < 0,05$). Отмечается снижение СОЭ уже через 1 мес лечения к 3 мес лечения в ОГ ($p = 0,03$). В ГС статистически значимой динамики СОЭ в процессе лечения не происходит ($p > 0,05$).

Проведён анализ влияния меглума акридо-нацетата на рецепторы к интерферону гамма на моноцитах. Выявлена достоверно значимая зависимость от комплексного лечения пациентов с применением меглума акридо-нацетата через 3 мес лечения в сторону уменьшения количества CD45CD14CD119 (при поступлении $4,13 [1,134; 21,311]$ в 1 мкл; через 3 мес $2,927 (1,676; 4,844)$ в 1 мкл) в ОГ ($p = 0,018$), за счёт CD45+CD14+CD119+ ($p = 0,018$). В ГС количество CD45CD14CD119 при поступлении составило $4,286 (0,859; 19,854)$ в 1 мкл, а через 3 мес — $11,742 (4,256; 24,864)$ в 1 мкл. В процессе лечения общее количество CD45CD14CD119 снижается в ОГ статистически значимо через 3 мес по сравнению с количеством через 1 мес лечения ($p = 0,028$) и статистически значимо не отличается от КГ ($1,312 (0,235; 1,992)$ в 1 мкл) через 3 мес лечения ($p = 0,07$). В ГС имеет место статистически значимое увеличение данных рецепторов к 3 мес лечения ($p = 0,05$) по сравнению с их количеством при поступлении. Количество CD45CD14CD119 в ГС отличается от КГ при поступлении ($p = 0,043$), через 2 ($p = 0,008$) и через 3 ($p = 0,001$) мес лечения. Такая же тенденция выявлена и по количеству CD45+CD14+CD119+ в обеих группах. В ОГ их количество уменьшается по сравнению с данными через 1 мес лечения ($p = 0,028$). В ГС количество рецепторов становится больше к 3 мес лечения по сравнению с данными при поступлении ($p = 0,028$).

В процессе лечения количество ИФН γ в сыворотке крови у пациентов ОГ увеличивается в 1,2 раза уже через 1 мес ($1,02 (0; 4,15)$ пг/мл) лечения (при поступлении $0,83 (0; 2,43)$ пг/мл). Через 2 мес лечения ($2,19 [0,29; 4,98]$ пг/мл) количество ИФН γ в сыворотке крови возросло в 2,6 раз от момента поступления, и в 2,1 раза по сравнению с данными через 1 мес лечения. Через 3 мес лечения ($3,19 [0,77; 9,85]$ пг/мл) количество ИФН γ в сыворотке крови возросло в 3,8 раз от момента поступления, и в 1,5 раза по сравнению с данными через 2 мес лечения ($p = 0,005$). У пациентов ГС статистически значимой динамики количества ИФН γ в сыворотке крови не происходит ($p > 0,05$). При поступлении в ГС количество ИФН γ в сыворотке крови составило $5,8 (3,48; 9,4)$ пг/мл. Через 1 мес лечения количество ИФН γ в ГС снижается в 1,7 раза ($3,48 (1,97; 7)$ пг/мл). Через 2 мес лечения ($5,08 (1,97; 8,79)$ пг/мл) количество ИФН γ увеличивается в 1,5 раз по сравнению с данными через 1 мес лечения и становится практически равным уровню ИФН γ при поступлении. Через 3 мес лечения ($2,73 [0,75; 7,42]$ пг/мл) количество ИФН γ снижается в 2,1 раза по сравнению с данными при поступлении.

Выявлено статистически значимое положительное влияние циклоферона на уровень АЛАТ в

сыворотке крови ($p=0,024$). АЛАТ повышена при поступлении у 15,4% пациентов ОГ и у 18,4% пациентов в ГС ($p>0,05$). Через 1 мес лечения повышение АЛАТ отмечено у 23,1% пациентов в ОГ и у 37,1% пациентов в ГС. Через 2 мес лечения — у 15,8% в ОГ и у 51,7% пациентов в ГС (ХИ-квадрат 9,87, $p=0,0017$). Через 3 мес лечения — у 20,7% в ОГ и у 42,9% пациентов в ГС. У пациентов ОГ статистически значимо меняются показатели АЛАТ в сторону роста только через 2 мес лечения ($p=0,021$) по сравнению с данными при поступлении. У пациентов ГС статистически значимо меняются показатели АЛАТ в сторону роста уже через 1 мес лечения ($p=0,015$). АСАТ повышена при поступлении у 35,9% в ОГ и у 34,2% пациентов в ГС ($p>0,05$). Через 1 мес лечения — у 35,9% в ОГ и у 34,3% пациентов в ГС. Через 2 мес лечения — у 31,6% в ОГ и у 37,9% пациентов в ГС. Через 3 мес лечения — у 24,1% в ОГ и у 46,4% пациентов в ГС (критерий Фишера $p=0,055$). Таким образом, в процессе лечения у пациентов ОГ АСАТ снижается через 3 мес лечения, в отличие от пациентов ГС, у которых он повышается. Количество пациентов ОГ с повышенным уровнем АСАТ через 3 мес лечения в 1,7 раз меньше, чем в ГС.

Проведена оценка экономической эффективности комплексного лечения пациентов с распространёнными формами туберкулёза по предложенной нами схеме. Так как абациллирование пациентов в ОГ по большей части происходит через 2 мес лечения положительная рентгенологическая динамика в ОГ группе отмечается в среднем уже через 2 мес лечения, пациент может продолжать лечение (интенсивную фазу) до 3 мес амбулаторно. На полный курс лечения пациенту необходимо 150 таблеток циклоферона. Затраты на препарат составят (по максимальной стоимости препарата) 840750 белорусских рублей, что эквивалентно 87 долларам США. Один койко-день в стационаре ВОКПТД без учёта стоимости ПТЛС составляет минимально 170000 белорусских рублей (18 долларов

США). С учётом возможности лечения на дому экономическая эффективность составит 4259250 белорусских рублей (что эквивалентно 441 доллару США). Пациент ОГ может быть переведён на фазу продолжения на 1 мес раньше, чем пациент ГС. Соответственно переход на амбулаторный этап уменьшает количество ПТЛС вдвое (за месяц 54500 белорусских рублей). Всего экономическая эффективность на 1 пациента составила 4313750 белорусских рублей (эквивалентно 447 долларам США). В случае лечения 10 пациентов экономия составит 4470 долларов США, а для 100 пациентов возможная экономия составит 44700 долларов США.

Выводы

1. Применение в комплексной терапии меглумина акридоната нормализует количество рецепторов к интерферону гамма через 3 мес комплексного лечения и повышает в 3,8 раза уровень ИФН γ .

2. У пациентов с распространёнными формами туберкулёза лёгких применение в комплексной терапии меглумина акридоната по предложенной нами схеме повышает эффективность терапии (более раннее исчезновение симптомов заболевания, раннее прекращение бактериовыделения, сокращение сроков закрытия полостей распада, более выраженная положительная рентгенологическая динамика), по сравнению с пациентами, получающими только этиотропную терапию.

3. Применение комплексной терапии у пациентов с распространёнными формами туберкулёза лёгких снижает частоту побочных эффектов (поражение печени) от приёма ПТЛС.

4. Использование комплексной терапии пациентов с распространёнными формами туберкулёза лёгких является экономически эффективным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Migliori G.B. et al. European union of standards for tuberculosis care. Eur Respir J 2012; 39: 807—819.
2. Туберкулёз: особенности клинического течения и возможности фармакотерапии на современном этапе. / Под ред. А.К. Иванова, М.Г. Романцова. 2-е изд. — С.-Пб.: 2010; 184.
3. Лазаренко Л.Л., Мартыщенко Н.Л., Шкурупий В.А. Способ лечения очагового и инфильтративного туберкулёза лёгких: пат. 2297846 Россия, А61Р31/06-для лечения туберкулёза, А61К38/21-интерфероны. Заявитель ГУ НЦ КЭМ СО РАМН. — № 2002108206/14; опубл. 27.01.2004.
4. Иванова О.Г. Клинико-патологические аспекты нарушения адаптивных реакций организма при инфильтративном туберкулёзе лёгких: автореф. дисс. ... канд. мед. наук: 140016, 140026 Омск, 2008; 52.
5. Шпаковская Н.С. и др. Динамика цитокинов у больных с распространёнными формами туберкулёза лёгких в процессе химиотерапии. Мед. панорама. 2004; 10.
6. Интерферону — 50 лет: материалы конф. /Под ред. Ф.И. Ершова и др. М.: 2007.
7. Новицкий В.В. Цитокинпродуцирующая активность мононуклеарных фагоцитов периферической крови у больных туберкулёзом лёгких до лечения и на фоне химиотерапии. Пробл туб и бол лёгких 2005; 6: 39—42.
8. Сахарова И.Я. Показатели иммунитета и биологические свойства микобактерий при инфильтративном туберкулёзе лёгких. Пробл туб и бол лёгких 2005; 11: 14—17.
9. Гунтупова Л.Д. Особенности иммунологии туберкулёза: научные труды Всероссийской науч.-практ. конф., С.-Петербург, 29—31 октября 2008 г. / Под ред. Ю.Н. Левашева. СПб.: 2008; 232.
10. Демидик С.Н., Суханов Д.С. Циклоферон в комплексной терапии больных с распространёнными формами туберкулёза лёгких. Экспер клин фармакол. 2012; 75: 5: 17—21.
11. Коломиец В.М. и др. Эффективность применения иммуномодуляторов в лечении деструктивных форм туберкулёза лёгких. Курский научн. вестник Человек и его здоровье. 2013; 1.
12. Суханов Д.С., Оковитый С.В., Демидик С.Н., Иванов А.К., Романцов М.Г. Взаимосвязь уровня эндогенного интерферона-гамма и риска гепатотоксических реакций у больных туберкулёзом органов дыхания. Экспер клин фармакол 2012; 75: 6: 40—43.

Редокс-зависимые процессы в плазме крови, нейтрофилах и эритроцитах больных раком яичников после полихимиотерапии по схеме CAP

Т. П. ГЕНИНГ, Т. В. АБАКУМОВА, Д. Р. ДОЛГОВА, И. И. АНТОНЕЕВА,
С. О. ГЕНИНГ, С. С. ПИРМАМЕДОВА, А. В. ФОМИНА, Е. В. ВАСИЛЬЕВА

Ульяновский государственный университет, Ульяновск

Redox-Dependent Processes in Blood Plasma, Neutrophils and Erythrocytes of Patients with Ovary Cancer after Polychemotherapy by CAP Scheme

T. P. GENING, T. V. ABAKUMOVA, D. R. DOLGOVA, I. I. ANTONEEVA,
S. O. GENING, S. S. PIRMAMEDOVA, A. V. FOMINA, E. V. VASILYEVA

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk

Рассматривается динамика редокс-зависимых процессов в плазме крови, нейтрофилах и эритроцитах больных раком яичников в III клинической стадии по FIGO после полихимиотерапии по схеме CAP. В плазме крови и эритроцитах оценивали показатели окислительной модификации белков — карбонильные производные при $\lambda=346$ нм, 370 нм, 430 нм и 530 нм, параметры перекисного окисления липидов — малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты, кетодиены, шиффовы основания; ферментативное звено антиоксидантной системы: активность каталазы, глутатионтрансферазы и супероксиддисмутазы. В нейтрофилах периферической крови цитохимически определяли активность миелопероксидазы и долю активных нейтрофилов в спонтанном НСТ-тесте. Было установлено повышение содержания в плазме крови и эритроцитах больных раком яичников после полихимиотерапии продуктов окислительной модификации белков и перекисного окисления липидов. Одновременное повышение в плазме крови активности изучаемых антиоксидантных ферментов может свидетельствовать о переходе системы «перекисное окисление липидов-антиоксиданты» на более высокий уровень функционирования. При этом одновременное снижение активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах свидетельствует о возможности развития в них оксидативного стресса. После курсов полихимиотерапии достоверно и значимо сокращается общее количество нейтрофилов, в которых после второго курса снижается активность миелопероксидазы и в спонтанном НСТ-тесте. Подобная динамика редокс-зависимых процессов в различных компонентах крови организма-опухоленосителя характеризует биологический портрет опухоли и диктует целесообразность использования дифференцированной многокомпонентной антиоксидантной терапии у больных раком яичников.

Ключевые слова: рак яичников, полихимиотерапия, нейтрофилы, плазма крови, эритроциты, редокс-зависимые процессы.

The dynamics of the redox-dependent processes in blood plasma, neutrophils and erythrocytes of the patients with ovary cancer of the IIIrd clinical stage by FIGO after polychemotherapy according to the CAP scheme is considered. In the blood plasma and erythrocytes there were estimated the values of protein oxidative modification: carbonyl derivatives at $\lambda=346$ nm, 370 nm, 430 nm and 530 nm; the lipid peroxidation parameters: malonic dialdehyde, dienic conjugates, ketodiens, shiff's bases; the fermentative chain of the antioxidant system: activities of catalase, glutathiontransferase and superoxide dismutase. In the peripheral blood neutrophils there were cytochemically determined the myeloperoxidase activity and the number of the active neutrophils in the spontaneous NBTR-test. After the polychemotherapy there were detected higher levels of the protein oxidative modification products and the products of the lipid peroxidation in the blood plasma and erythrocytes of the patients. Simultaneous increase of the activity of the antioxidant enzymes in the blood plasma could be evident of a high level of the lipid antioxidants peroxidation system functioning, whereas the simultaneous decrease of the activity of the antioxidant enzymes in the erythrocytes was indicative of possible development of oxidative stress in them. After the chemotherapy there was observed a significant and reliable decrease of the total number of the neutrophils. After the second course of the chemotherapy the activity of myeloperoxidase in them in the spontaneous NBTR-test as well decreased. Such a dynamics of the redox-depended processes in various components of the blood in the tumour carrier was characteristic of the tumor biological picture and required the use of differential multicomponent antioxidant therapy in patients with ovary cancer.

Key words: ovary cancer, polychemotherapy, neutrophils, blood plasma, erythrocytes, redox-dependent processes.

Известно, что редокс-зависимые процессы, обеспечивающие окислительный метаболизм, включают генерацию активных форм кислорода

(АФК), перекисное окисления липидов (ПОЛ), окислительную модификацию белков (ОМБ) и антиоксидантную защиту (АОЗ). Образующиеся АФК в норме выступают в качестве медиаторов редокс-регулируемых сигнальных путей [1]. На сегодня считается доказанным, что причины, вызывающие интенсификацию свободнорадикальных

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: E-mail: Naum-53@yandex.ru

процессов, могут быть различными, но изменения на молекулярном уровне носят однотипный характер. В частности, общим является разнонаправленные изменения свободнорадикальных процессов и буферной ёмкости антиоксидантной системы [2]. Подобная ситуация рассматривается как оксидативный стресс (ОС) и является патогенетическим звеном онкозаболеваний [3–5].

Рак яичников (РЯ), диагностируемый в основном в III–IV стадии заболевания, представляет актуальную проблему современной онкогинекологии [6]. Разработка патогенетических обоснованных методов ранней диагностики и лечения РЯ остается приоритетной [7]. Доказано, что активация свободнорадикального окисления усиливающаяся при нарастании опухолевой массы, лежит в основе патогенеза РЯ [8]. Злокачественные опухоли яичников чувствительны к проведению лекарственной полихимиотерапии (ПХТ). Однако у пациенток с III–IV стадией возможности ПХТ, обладающей выраженным токсическим воздействием, ограничены в связи с уже имеющимися нарушениями метаболических функций в результате нарастания опухолевой массы в организме. В связи с вышеизложенным возникает необходимость разработки научно обоснованных подходов проведения ПХТ РЯ, основанных на использовании в схеме комплексного лечения антиоксидантов.

Целью исследования была оценка редокс-зависимых процессов в плазме крови, нейтрофилах (Нф) и эритроцитах (Эр) больных РЯ после ПХТ по схеме САР.

Материал и методы

Обследуемая группа состояла из 96 первичных больных РЯ в III стадии по FIGO, подвергавшихся обследованию и лечению в гинекологическом отделении Ульяновского областного клинического онкологического диспансера. Больные были обследованы до начала лечения, через 3 и 14 дней после первого и через 3 и 14 дней после второго курса ПХТ по схеме САР (цисплатин 75 мг/м², доксорубин 40 мг/м² и циклофосфамид 600 мг/м²). Интервал между курсами составил 21 день. Контрольную группу составили 18 практически здоровых женщин. В плазме и эритроцитах крови оценивали уровень ОМБ по Е.В.Дубининой (1999). Результаты регистрировали при $\lambda=346$ нм и $\lambda=370$ нм (альдегидные и кетонные группы нейтрального характера), при $\lambda=430$ нм и $\lambda=530$ нм (соответственно альдегидные и кетонные группы основного характера) в ед.опт.плотности на мг белка. Для оценки ПОЛ в плазме и Эр крови определяли по И.А.Волчегорскому количество диеновых конъюгатов (ДК) при $\lambda=232-220$ нм, кетодиенов (КД) при $\lambda=278-220$ нм, шиффовых оснований (ШО) при $\lambda=400-220$ нм. Содержание вторичных продуктов ПОЛ — малонового диальдегида (МДА) — оценивали по Андреевой А.И. Для оценки ферментативного звена антиоксидантной системы (АОС) в плазме крови и Эр определяли активность каталазы, глутатион-S'-трансферазы (ГТ) по Карпищенко А. И. (1999). В Эр также определяли активность супероксиддисмутазы (СОД). Нф выделяли из венозной крови центрифугированием на двойном градиенте фиколл-урографина ($\lambda=1,117$ и $1,077$ г/мл). Определяли абсолютное и относительное количество Нф. Цитохимически в Нф определяли активность миелопероксидазы

(МПО) и долю активных Нф (ДАН) в спонтанном варианте НСТ-теста. Результаты выражали в виде среднего цитохимического коэффициента (СЦК). В работе использовались методы непараметрической статистики. Значимость различий вариационных рядов в связанных попарно выборках оценивалась с помощью U-критерия Вилкоксона-Манна-Уитни, корреляция показателей вычислялась по методу Спирмена. Анализ данных проводился с помощью пакета прикладных программ (Statistica 6). Достоверным считали различия между сравниваемыми рядами с уровнем достоверной вероятности 95% ($p<0,05$).

Результаты и обсуждение

На сегодня показано, что усиление редокс-зависимой модификации белков имеет место при поражении различных органов. В отличие от продуктов ПОЛ, карбонильные производные белков плазмы и эритроцитов более стабильны и специфичны, что позволяет использовать их в качестве маркёров оксидативного стресса при патологических процессах [9]. В результате проведённых исследований нами установлено повышение содержания продуктов ОМБ в плазме крови и Эр больных РЯ по сравнению с донорами. Так, содержание альдегидных и кетонных групп нейтрального характера в плазме крови составило $0,510\pm0,048$ ед. опт. плот. против $0,418\pm0,034$ ед. опт. плот. в контроле ($p<0,05$) соответственно. Содержание карбонильных производных основного характера составило для альдегидных производных $0,303\pm0,019$ ед. опт. плот. против $0,230\pm0,022$ ед. опт. плот. в контроле ($p<0,05$) и $309\pm0,029$ ед. опт. плот. против $0,082\pm0,012$ ед. опт. плот. в контроле ($p<0,05$) соответственно. Содержание в Эр больных РЯ альдегидных и кетонных групп нейтрального характера колебалось в пределах коридора нормы. Уровень карбонильных производных основного характера у больных РЯ значимо превышал таковой в Эр доноров и составил для альдегидных групп $0,854\pm0,029$ ед. опт. плот. против $0,706\pm0,048$ ед. опт. плот. в контроле ($p<0,05$) и для кетонных групп $0,501\pm0,035$ ед. опт. плот. против $0,368\pm0,020$ ед. опт. плот. в контроле ($p<0,05$). Результаты изучения уровня ОМБ в плазме на фоне ПХТ крови представлены на рис. 1. Из данных рис. 1 следует, что прогрессивно и значимо на фоне ПХТ в плазме крови увеличивается содержание карбонильных производных основного характера, регистрируемых при $\lambda=430$ нм и $\lambda=530$ нм.

Результаты изучения уровня ОМБ в Эр больных РЯ на фоне ПХТ представлены на рис. 2. Из данных, представленных на рис. 2 следует, что содержание кетонных и альдегидных групп нейтрального характера достоверно увеличенное уже после первого курса ПХТ, продолжало возрастать через 14 дней и оказывалось сниженным после второго курса ПХТ. Уровень карбонильных производных белка в Эр на всех изученных сроках после обоих курсов ПХТ колебался в пределах

показателей до введения химиопрепаратов по схеме САР. Колебания уровней различных продуктов ОМБ имеют свои особенности. Возможно, это связано с условиями их образования. Однако образование карбонильных производных возникает в результате сильных повреждающих форм окислительной модификации как путём прямого окисления аминокислотных остатков, так и при взаимодействии с продуктами ПОЛ — МДА [10]. Их содержание является показателем общего окислительного стресса [11].

В результате проведённых исследований была установлена активация процессов ПОЛ в плазме крови и Эр больных РЯ по сравнению с донорами (табл. 1).

Одновременное повышение активности антиоксидантных ферментов — ГТ в плазме крови и Эр и ГТ и СОД в Эр (см. табл. 1) может свидетельствовать о переходе системы ПОЛ-АО на более высокий уровень функционирования [12]. Снижение активности каталазы как в плазме крови, так в эритроцитах (табл. 1) может свидетельствовать о снижении генерации опухолевыми клетками H_2O_2 , ингибирующий размножение клеток. Данные результаты могут находиться в противоречии с рядом других работ, в которых на клеточных культурах показано повышение продукции H_2O_2 опухолевыми клетками по сравнению с нормальными [13].

Следующим этапом работы было изучение особенностей протекания реакций ПОЛ и уровня ферментов АОЗ в плазме крови и Эр при проведении курсов ПХТ по схеме САР. Было установлено, что уровень МДА в плазме крови повышался через 3 суток после первого курса ПХТ; сохранялся на этом уровне через 14 суток и через 3 суток после второго курса и снижался до уровня, регистрируемого до начала ПХТ через 14 дней после второго курса (рис. 3). Уровень КД значительно возрастал только через 14 дней

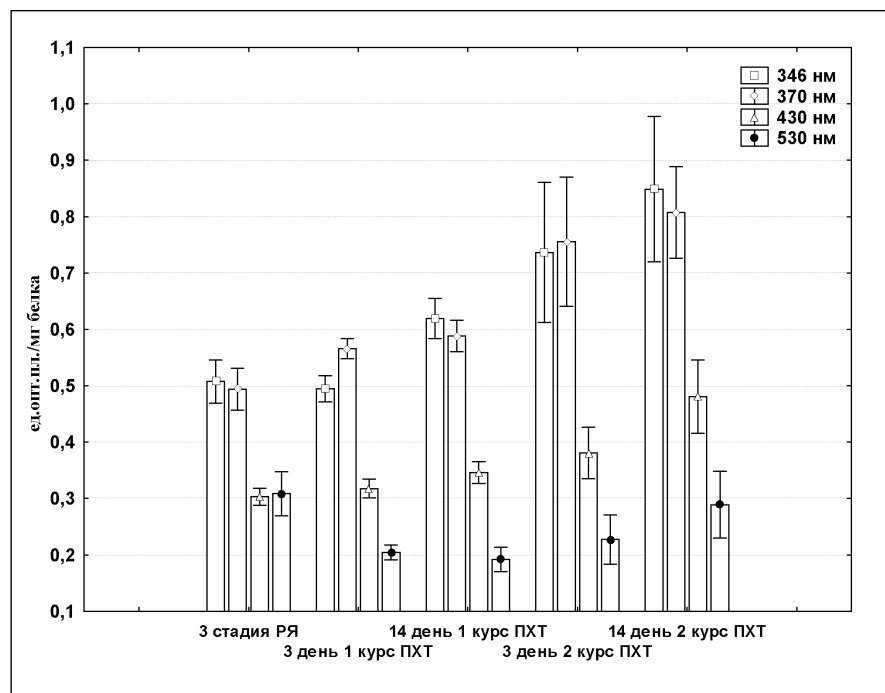


Рис. 1. Содержание продуктов ОМБ в плазме крови больных РЯ на 3-й и 14-й день после первого и второго курса ПХТ по схеме САР.

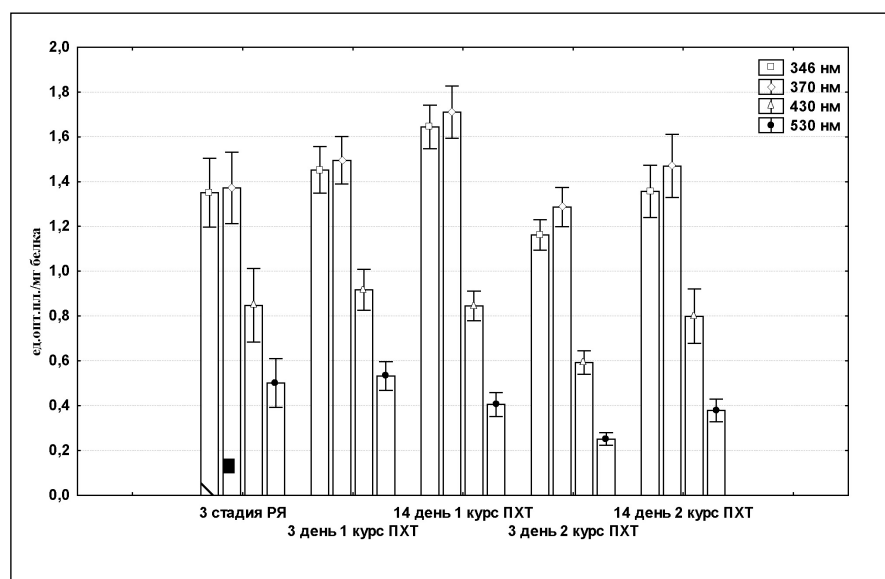


Рис. 2. Содержание продуктов ОМБ в Эр крови больных РЯ на 3-й и 14-й день после первого и второго курса ПХТ по схеме САР.

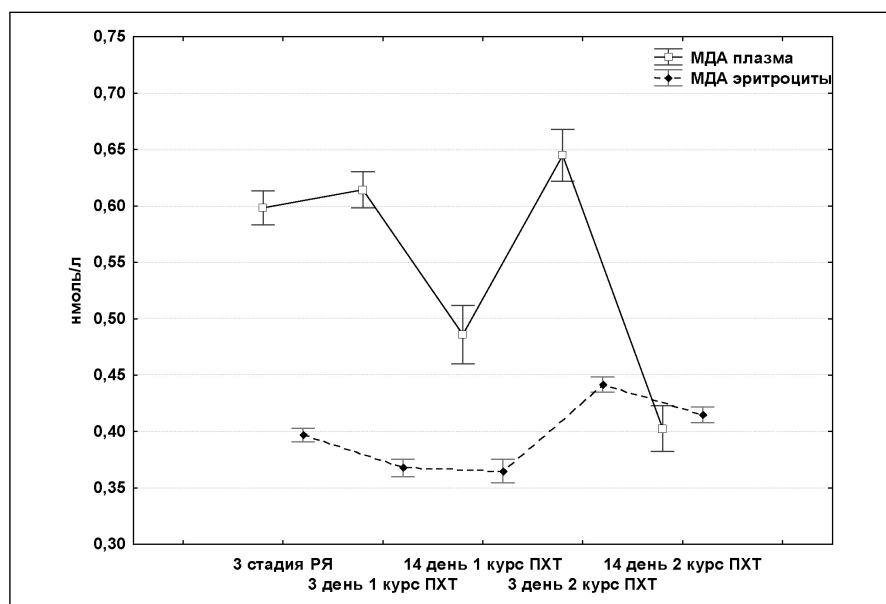
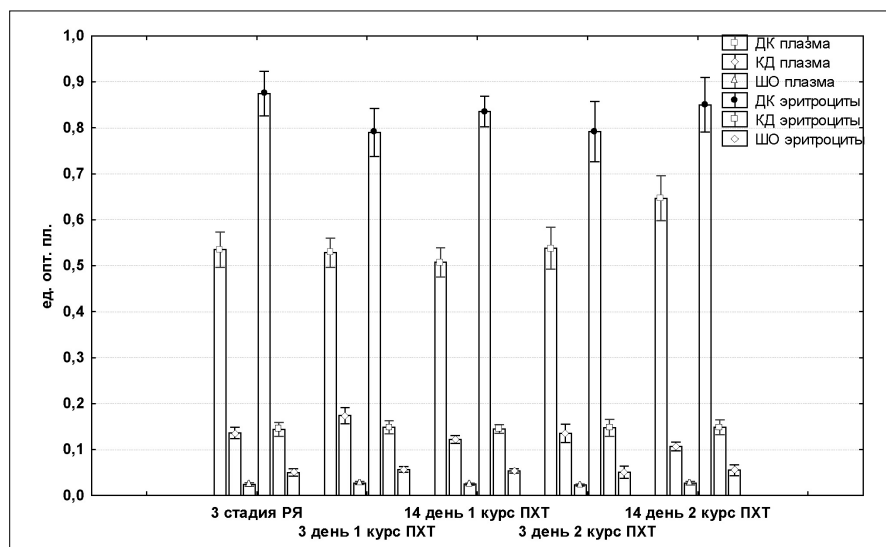
после второго курса; уровень ШО возрастал через 3 и 14 дней после первого курса и затем снижался до исходных величин (рис. 4). Активность антиоксидантных ферментов — ГТ и каталазы — была снижена на всех изученных сроках после ПХТ по сравнению с их уровнем до введения химиопрепаратов у больных РЯ (см. рис. 3).

Несколько иная картина возникает при анализе компонентов системы ПОЛ-АОЗ в Эр больных РЯ после ПХТ по схеме САР (см. рис. 4). Повы-

Таблица 1. Показатели ПОЛ-АОС плазмы крови и эритроцитов больных РЯ в III клинической стадии заболевания

Группа обследуемых	МДА, мкмоль/л	ДК, ед. опт. плот./мг	КД, ед. опт. плот./мг	ШО, ед. опт. плот./мг	ГТ, мкмоль/мин/л	Каталаза, моль/мин/л	СОД, у.е./л
ПЛАЗМА КРОВИ							
Доноры (n=18)	3,020±0,103	0,451±0,026	0,089±0,007	0,015±0,002	0,031±0,004	4,330±0,710	—
РЯ III стадия (n=96)	4,810±0,190*	0,510±0,064	0,150±0,080*	0,030±0,009*	0,110±0,008	0,100±0,020*—	—
ЭРИТРОЦИТЫ							
Доноры (n=18)	305,40±10,36	0,547±0,031	0,121±0,011	0,032±0,005	0,341±0,038	8,796±0,875	0,827±0,136
РЯ III стадия (n=96)	380,82±7,49*	0,876±0,029*	0,146±0,008	0,050±0,006	0,870±0,041	5,710±0,720	1,950±0,102

Примечание. * — данные, статистически значимо отличающиеся от показаний доноров.

**Рис. 3.** Уровень МДА в плазме крови и эритроцитах больных РЯ до и после ПХТ по схеме CAP.**Рис. 4.** Уровни продуктов ПОЛ (КД, ДК и ШО) в плазме крови и эритроцитах больных РЯ до и после ПХТ по схеме CAP.

шенный по сравнению с Эр доноров уровень МДА продолжает возрастать через 3 дня после первого курса ПХТ, несколько снижается через 14 дней и вновь возрастает после 2-го курса ПХТ (см. рис. 3). Уровни ДК, КД и ШО после ПХТ значимо не изменяются (см. рис. 4).

При оценке активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах больных РЯ после ПХТ по схеме CAP установлено достоверное снижение активности ГТ на всех сроках, резкое повышение через 3 суток после первого курса и затем достоверное снижение активности каталазы (рис. 5).

Активность СОД, значимо повышенная у больных РЯ ($1,95 \pm 0,122$ у.е./л против $0,827 \pm 0,136$ у.е./л в контроле), резко снижалась после первого курса ПХТ ($0,873 \pm 0,090$ у.е./л и $0,940 \pm 0,018$ у.е./л через 3 и 14 дней соответственно) и значимо возрастала после второго курса ПХТ ($2,24 \pm 0,274$ у.е./л и $1,75 \pm 0,230$ у.е./л через 3 и 14 дней соответственно). Подобная динамика, свидетельствующая о большей, чем в плазме крови, антиоксидантной ёмкости Эр, тем не менее позволяет предполагать в Эр развитие оксидативного стресса.

Установлено, что у онкологических больных как опухолевый процесс, так и проводимая химиотерапия влияют на редокс-зависимые процессы в Нф [14, 15]. Показано, что объективный клинический ответ

на ПХТ связан со структурной и функциональной сохранностью иммунной системы. Получены данные, что при взаимодействии ПХТ повышается иммуногенность опухолевых клеток за счёт появления на их мембране неоантигенов. Вызываемая цитостатиками транзиторная нейтропения, по мнению ряда авторов [16], возможно по механизму обратной связи, запускает гомеостатическую пролиферацию иммунокомпетентных клеток с отменой опухоль-ассоциированной анэргии. При этом повышается эффективность лечения. Однако, по мнению других авторов [14], онкологические больные после курсов ПХТ составляют группу риска развития инфекционных осложнений как в связи со снижением абсолютного числа Нф, так и в связи со снижением МПО- и НАДФН-зависимой генерации Нф АФК.

Проведённые нами исследования позволили установить, что абсолютное и относительное количество Нф у больных РЯ значимо повышено по сравнению с донорами; достоверное их снижение по сравнению с периодом до начала ПХТ имеет место через 14 дней после первого и через 14 дней после второго курса ПХТ.

Активность МПО Нф больных РЯ статистически значимо не изменяется по сравнению с донорами. На фоне проведения ПХТ имеет место снижение активности МПО, значимое и наиболее выраженное через 14 дней после второго курса. Количество Нф в спонтанной реакции НСТ значимо повышено у больных РЯ и сохраняется на этом уровне через 3 и 14 дней после первого курса ПХТ. После второго курса ПХТ в Нф снижается активность в спонтанной НСТ-реакции. Уровень АФК плазмы крови определяется в том числе наработкой их Нф и деградацией антиоксидантами. При оценке коррелятивных связей было установлено, что повышение количества

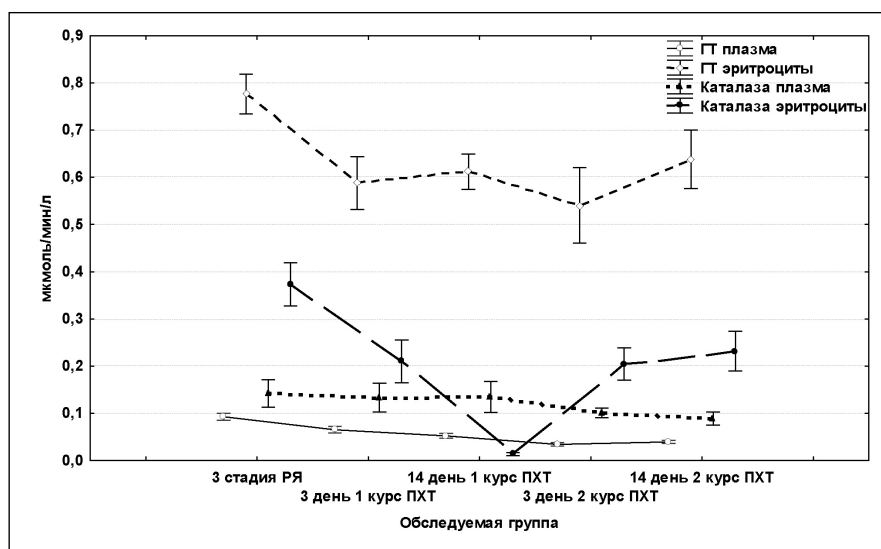


Рис. 5. Активность каталазы и ГТ в плазме крови и эритроцитах больных РЯ до и после ПХТ по схеме САР.

Нф, активных в спонтанном НСТ-тесте, достоверно и сильно коррелирует с уровнем МДА ($r=0,6632$; $p=0,02$) через 3 дня и достоверно со средней силой через 14 дней ($r=0,4819$; $p=0,05$) после первого курса ПХТ. Через 3 дня также достоверно и сильно с возрастанием числа активных Нф коррелируют уровни всех изученных карбонильных производных (коэффициент корреляции колеблется от 0,6205 до 0,7727 при $p=0,02$). Поскольку одновременно возрастает активность каталазы и ГР ($r=0,5145$; $p=0,05$), это подтверждает наши предположения о переходе системы ПОЛ-АО после первого курса ПХТ по схеме САР на более высокий уровень функционирования, инициированным возрастанием количества Нф, активно продуцирующих АФК.

В Эр сильные положительные корреляционные связи между количеством активных Нф и показателями ПОЛ и ОМБ имели место ещё до начала ПХТ. Для МДА $r=0,8465$, $p=0,02$; ДК — $r=0,8100$, $p=0,05$ и ОМБ при $\lambda=370\text{nm}$ — $r=0,6954$, $p=0,05$. После первого и второго курсов ПХТ по схеме САР сильные положительные корреляционные связи между количеством активных Нф и окислительным потенциалом в Эр сохранились.

Таблица 2. Редокс-зависимые показатели Нф больных РЯ в III стадии по FIGO после ПХТ по схеме САР

Показатель	Доноры (n=18)	РЯ III стадия	I курс ПХТ (n=96)		II курс ПХТ (n=89)	
			3 дня	14 дней	3 дня	14 дней
Lei*10 ⁹ /л	6,40±0,31	8,19±0,64	9,40±1,02*	3,07±0,65*#	8,82±1,11*	2,34±0,16*#
Нф*10 ⁹ /л	3,60±0,62	5,81±0,02	7,22±0,02*	1,27±0,05*#	6,29±0,03*	1,09±0,02*#
Нф, %	55,9±4,40	70,93±2,50*	76,00±2,47	41,42±7,27#	71,4±2,97*	44,6±5,62#
МПО, СЦК	2,70±0,09	2,64±0,12	2,63±0,10	2,47±0,08*	2,60±0,12	2,20±0,33*#
НСТ, СЦК	1,06±0,08	1,75±0,10*	1,57±0,09*	1,79±0,11*	1,21±0,07#	1,13±0,05#

Примечание. * — данные, статистически значимо отличающиеся от показателей доноров; # — данные, статистически значимо отличающиеся от данных до начала ПХТ.

Заключение

Таким образом, химиотерапия по схеме CAP у больных РЯ в III клинической стадии по FIGO индуцирует радикалообразование и изменяет уже нарушенный опухолевым процессом гомеостаз больного. При этом система ПОЛ-АОС в плазме крови переходит на более высокий уровень функционирования, в Эр развивается оксидативный стресс, и среди Нф, абсолютное и относительное количество которых на фоне ПХТ резко и значительно снижается, воз-

растает число клеток, активных в спонтанном НСТ-тесте. Подобная динамика редокс-зависимых процессов в различных компонентах крови организма-опухоленосителя характеризует биологический портрет опухоли и диктует целесообразность использования дифференцированной многокомпонентной антиоксидантной терапии у больных РЯ.

Работа поддержана государственным заданием МИНОБРНАУКИ России.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток: (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клиничко-биохимические процессы. СПб.: изд-во «Мед. Пресса», 2006; 397.
2. Linnane A.W., Eastwood H. Cellular redox regulation and prooxidant signaling systems: a new perspective on the free radical theory of aging. *Ann N Y Acad Sci.* 2006; 1067: 47–55.
3. Chiarugi P., Cirri P. Redox regulation of protein tyrosine phosphatases during receptor tyrosine kinase signal transduction. *Trends Biochem Sci* 2003; 8: 9: 509–514.
4. Kinnula V.L., Crapo J.D. Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors. *Free Radic Biol Med* 2004; 36: 6: 718–744.
5. Zhang Y., Chen F. Reactive oxygen species (ROS), troublemakers between nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) and c-Jun NH(2)-terminal kinase (JNK). *Cancer Res* 2004; 64: 6: 1902–1905.
6. Greenlee R.T., Hill-Harmon M.B., Murray T., Thun M. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2001; 1: 1: 15–36.
7. Бохман Я.В. Руководство по онкогинекологии. М.: Медицина, 2002; — 534.
8. Антонеева И.И., Абакумова Т.В., Арсланова Д.Р., Чеснокова Н.П. О патогенетической взаимосвязи процессов липопероксидации, ферментативного звена антиоксидантной системы неоплазмы и функционального состояния нейтрофилов асцитической жидкости при прогрессировании рака яичников у крыс. *Вест нов мед технол* 2008; 4: 16–17.
9. Горошинская И.А., Светицкий П.В., Качесова П.С., Светицкий А.П. Применение наночастиц железа в термoxимиотерапии экспериментальных опухолей. *Онкохирургия* 2013; 1: 84.
10. Kemp M., Go Y.M., Jones D.P. Nonequilibrium thermodynamics of thiol/disulfide redox systems: a perspective on redox systems biology. *Free Radic Biol Med* 2008; 44: 6: 921–937.
11. Zitnanová I., Sumegová K., Simko M., Maruniaková A., Chovanová Z., Chavko M., Duracková Z. Protein carbonyls as a biomarker of foetal-neonatal hypoxic stress. *Clin Biochem* 2007; 40: 8: 567–570.
12. Лю М.Б., Подобед И.С., Едыгенова А.К. Активные формы кислорода и пероксигенации в инвазии и метастазировании неоплазм. *Успех соврем биол* 2004; 124: 4: 329–341.
13. Dorward A., Sweet S., Moorehead R., Singh G. Mitochondrial contributions to cancer cell physiology: redox balance, cell cycle, and drug resistance. *J Bioenerg Biomembr* 1997; 29: 4: 385–392.
14. Никифорова З.Н., Варлан Г.В., Шевченко В.Е., Дмитриева Н.В. Влияние химиотерапии на кислородзависимую антимикробную активность нейтрофилов у больных раком молочной железы. *Вестн РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН* 2007; 18: 3: 61–66.
15. Антонеева И.И. Кислородзависимая антимикробная система нейтрофилов в динамике развития рака яичников. *Казан мед журн* 2008; 89: 4: 476–478.
16. Zitvogel L., Tesniere A., Apetoh L., Ghiringhelli F., Kroemer G. Immunological aspects of anticancer chemotherapy. *Bull Acad Natl Med* 2008; 192: 7: 1469–1487.

Биологически активные соединения, образуемые микроорганизмами-эндофитами

Н. Г. МАЧАВАРИАНИ, Л. П. ТЕРЕХОВА

Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе РАМН, Москва

Biologically Active Compounds Produced by Microbial Endophytes

N. G. MACHAVARIANI, L. P. TEREKHOVA

G. F. Gause Institute of New Antibiotics, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Микроорганизмы-эндофиты — богатый и далеко ещё не полностью изученный источник новых природных биологически активных соединений, привлекающий внимание многих ученых во всем мире. Наш обзор посвящен результатам исследования природных соединений с разнообразным биологическим действием, образуемых эндофитами.

Ключевые слова: биологически активные соединения, антибиотики, эндофиты.

Microbial endophytes present a rich and not fully studied source of novel natural biologically active compounds of wide interest all over the world. The research of natural compounds with various biological effects produced by endophytes are described in the review.

Key words: biologically active compounds, antibiotics, endophytes.

Эндофиты — микроорганизмы, которые населяют внутренние ткани высших растений и находятся с ними в симбиотических или мутуалистических отношениях [1]. Эти микробы живут в разных частях растения: корнях, стеблях, листьях, цветках, плодах и семенах. Наиболее часто выделяемыми эндофитами являются грибы, одноклеточные бактерии и актиномицеты. Считается, что эндофиты являются потенциальным источником новых антибиотиков и других биологически активных веществ для медицины, сельского хозяйства и биотехнологического использования [1, 2]. Именно поэтому в последнее время исследование этих микроорганизмов всё чаще привлекает внимание многих ученых во всем мире.

Растущий интерес к природным соединениям, полученным из культур эндофитов, можно оценить по количеству обзорных статей, появившихся в последнее время [2—11]. Недавние исследования показали большое разнообразие видов микроорганизмов-эндофитов и выделенных из них разнообразных соединений с различным биологическим действием [12—15].

1. Биологически активные вещества из грибов эндофитов

Из грибов-эндофитов чаще, чем из одноклеточных бактерий и актиномицетов, выделяют вторичные метаболиты с разнообразным биологическим действием (табл. 1).

Эндофитный гриб *Cryptosporiopsis quercina* синтезирует вещество криптокандин (cryptocandin), активное в отношении *Candida albicans*, *Trichophyton spp.* и ряда растительных патогенных грибов, в том числе *Sclerotinia sclerotiorum* и *Botrytis cinerea* [16]. *C. quercina* продуцирует также криптоцин (cryptocin) — уникальную тетрамовую кислоту. Это необычное соединение обладает высокой активностью в отношении *Pyricularia oryzae* (IC₅₀ 0,39 μM), а также ряда других растительных патогенных грибов [17].

Из культуры эндофитного гриба *Pestalotiopsis microspora* получили амбуиновую (ambuic) кислоту, обладающую противогрибковым действием. Штамм *P. microspora* был выделен из находящегося под угрозой исчезновения дерева *Torreya taxifolia*. Помимо амбуиновой кислоты *P. microspora* синтезирует ещё несколько соединений, которые также обладают противогрибковой активностью: песталозид (pestaloside), ароматический β-глюкозид и два пирона — песталопирон (pestalopyrone) и гидроксипесталопирон (hydroxypestalopyrone) [18]. Эти соединения обладают

© Н. Г. Мачавариани, Л. П. Терехова

Адрес для корреспонденции: 119021, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д. 11. E-mail: machavariani.nina@mail.ru

Таблица 1. Биологически активные вещества из грибов-эндофитов

Активное вещество		Активность	Продуцент	Растение-хозяин	Источник
Криптокандин	Cryptocandin	Противогрибная	<i>Cryptosporiopsis quercina</i>	—	[16]
Криптоцин	Cryptocin	Противогрибная	<i>Cryptosporiopsis quercina</i>	—	[17]
Амбуиновая кислота	Ambuic acid	Противогрибная	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	<i>Torreya taxifolia</i>	[18]
Песталозид	Pestaloside	Противогрибная	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	<i>Torreya taxifolia</i>	[18]
Песталопирон	Pestalopyrone	Противогрибная	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	<i>Torreya taxifolia</i>	[18]
Гидроксипесталопирон	Hydroxypestalopyrone	Противогрибная	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	<i>Torreya taxifolia</i>	[18]
Песталотиопсины А, В	Pestalotiopsins A, B	Противогрибная	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	<i>Torreya brevifolia</i>	[19]
2- α -гидроксидименинол	2- α -hydroxydimeninol	Противогрибная	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	<i>Torreya brevifolia</i>	[19]
Гумулан	Humulane	противогрибная	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	<i>Torreya brevifolia</i>	[19]
Коллетотриковая кислота	Colletotric acid	Антибактериальная	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Artemisia mongolica</i>	[20]
Фомопсихалазин	Phomopsichalasin	Антибактериальная	<i>Phomopsis</i> sp.	Измельченная пшеница	[21, 22]
Цитохалазаны N-S	Cytochalasans N-S	Цитотоксическая	<i>Phomopsis</i> spp.	Измельченная пшеница	[23]
Цитохалазаны H, J	Cytochalasans H, J	Цитотоксическая	<i>Phomopsis</i> spp.	Измельченная пшеница	[23]
Эпоксицитохалазаны H, J	Epoxycytochalasans H, J	Цитотоксическая	<i>Phomopsis</i> spp.	Измельченная пшеница	[23]
Дицерандрол А	Dicerandrol A	Антибактериальная, дрожжи	<i>Phomopsis longicolla</i> S1B4	<i>Dicerandra frutescens</i>	[24, 25]
Дицерандрол В	Dicerandrol B	Антибактериальная	<i>Phomopsis longicolla</i> S1B4	<i>Dicerandra frutescens</i>	[24, 25]
Дицерандрол С	Dicerandrol C	Антибактериальная	<i>Phomopsis longicolla</i> S1B4	<i>Dicerandra frutescens</i>	[24, 25]
Фузаристатин А	Fusaristatin A	Антибактериальная	<i>Phomopsis longicolla</i> S1B4	<i>Dicerandra frutescens</i>	[24, 25]
Диацетилфомоксантон В	Deacetylphomoxanthone B	Антибактериальная	<i>Phomopsis longicolla</i> S1B4	<i>Dicerandra frutescens</i>	[24, 25]
Монодиацетил-фомоксантон В	Monodeacetyl-phomoxanthone B	Антибактериальная	<i>Phomopsis longicolla</i> S1B4	<i>Dicerandra frutescens</i>	[24, 25]
Цилиндроциклин А	Cylindrocyclin A	Антибактериальная	<i>Cylindrocarpus</i> sp. A101-96	веточка	[28]
Пиперин	Piperine	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> и <i>M. smegmatis</i>	<i>Periconia</i> sp.	<i>Piper longum</i> L.	[29]
Церкоспорин	Cercosporin	<i>Plasmodium falciparum</i>	<i>Mycosphaerella</i> sp. nov. F2140	<i>Psychotria horizontalis</i>	[30]
Фотипироны	Photipyrones A-B	Противоопухолевая	<i>Pestalotiopsis photiniae</i>	<i>Roystonea regia</i> (H.B.K.)	[31]
Трихалазины А, В	Trichalasin A, B	Противоопухолевая	<i>Trichoderma gamsii</i>	<i>Panax notoginseng</i>	[32]
Цитоновые кислоты	Cytomic acid A, B	Противовирусное действие (hCMV)	<i>Cytospora</i> sp.	—	[33]

Примечание. «—» — нет информации о растении-хозяине.

ещё и фитотоксичными свойствами. Другими продуцируемыми *P. microspora* (эндофит из *Torreya brevifolia*) вторичными метаболитами являются два новых кариофиллена сесквитерпена — песталотиопсины А и В (pestalotiopsins A, B) [19]. Другие новые сесквитерпены, синтезируемые этим грибом, — 2- α -гидроксидименинол (2- α -hydroxydimeninol) и гумулан (humulane). Химическое строение и биологическое действие

продуктов, синтезируемых этим грибом, зависит от культуральной среды и растения-хозяина, из которого он был изолирован [19].

Коллетотриковая (colletotric) кислота — вторичный метаболит эндофитного гриба *Colletotrichum gloeosporioides*, выделенного из полыни *Artemisia mongolica*, обладает антимикробной активностью в отношении бактерий и противогрибной активностью в отношении

Helminthosporium sativum. Другая культура *Colletotrichum sp.*, также выделенная из полыни однолетней *Artemisia annua*, синтезирует биологически активные метаболиты, которые показали антимикробный спектр активности такой же как у *A. annua* — традиционной китайской травы, хорошо известной своей способностью синтезировать артемизинин (противомалярийный препарат). *Colletotrichum sp.*, выделенный из *A. annua*, синтезирует метаболиты с активностью в отношении не только патогенных для человека грибов и бактерий, но и в отношении растительных патогенов [20].

Эндофитные грибы рода *Phomopsis spp.* могут синтезировать множество вторичных метаболитов различного химического строения и биологического действия, например, таких как 10-фенил-[11] цитохалазаны (10-phenyl-[11] cytochalasans), названные цитохалазанами N-S (cytochalasans N-S), цитохалазанами H и J (cytochalasans H, J) и эпоксицитохалазанами H и J (epoxy-cytochalasans H, J), которые обладают цитотоксическим действием [21]. Из измельченной пшеницы была выделена культура гриба *Phomopsis sp.*, которая оказалась продуцентом фомопсихалазина (phomopsichalasin) (рис. 1) — вещества с тремя цитохалазиновыми макролидными кольцами (cytochalasin macrolide ring). Данный препарат обладал антимикробной активностью [22, 23]. Культура гриба *Phomopsis longicolla S1B4*, выделенная из мяты *Dicerandra frutescens*, образует антибиотические вещества группы дицерандролов (dicerandrols) (рис. 2). Структурная формула соединений этой группы веществ представляет собой 2,2'-димерных тетрагидроксантона (2,2'-dimeric tetrahydroxanthones) [24, 25]. Данные препараты активны в отношении *Xanthomonas oryzae* КАСС 10331 — бактерии, поражающей культуры риса и других сельскохозяйственных культур азиатского региона, вызывая бактериоз. Результаты исследований антибиотической активности показали, что диацетилфомоксантон В (deacetylphomoxanthone В) обладает большей антибактериальной активностью, чем другие соединения этой группы. Кроме того, дицерандрол А (dicerandrol А) показал значительную активность в отношении семи других штаммов *X.oryzae* по сравнению с контролем (2,4-диацетилфлороглюцинол) (2,4-diacetylphloroglucinol) (ВФЗП) и антимикробную активность по отношению к грамположительным бактериям (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) и грибам (*Candida albicans*) [26]. Таким образом, дицерандрол А (dicerandrol А) может применяться в качестве природного профилактического препарата против бактериоза риса. Помимо соединений дицерандролов *Phomopsis spp.* синтезирует новый антимикробный вторичный метаболит монодиаце-

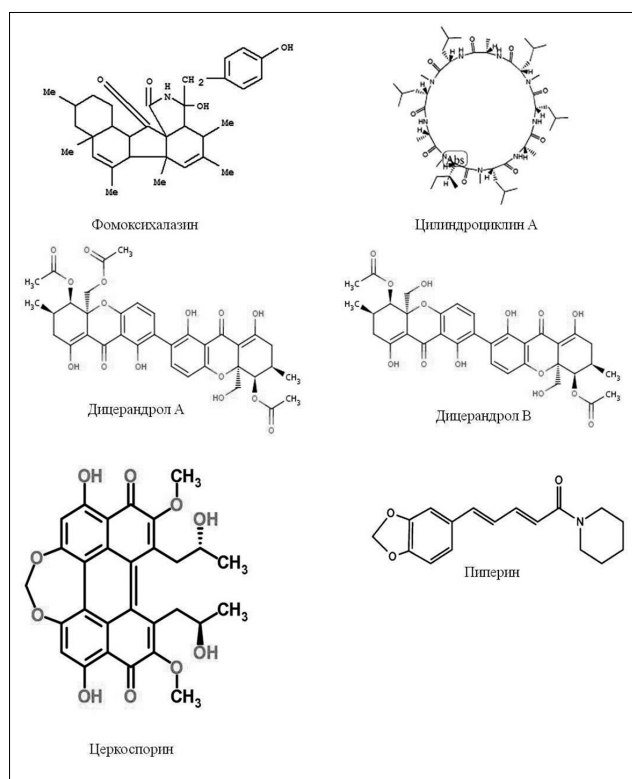


Рис. 1. Химические структуры некоторых представителей биологически активных соединений, образуемых грибами-эндофитами.

тилфомоксантон В (monodeacetylphomoxanthone В), который также оказался эффективным в отношении *X. oryzae* [27].

Из штамма эндофитного гриба *Cylindrocarpon sp.* A101-96 был получен циклопептидный антибиотик цилиндроциклин А (cylindrocyclin А) (рис. 1), который обладал активностью только по отношению к нематодам в концентрациях 11–53 μM [28].

Культура эндофитного гриба *Periconia sp.*, выделенная из *Piper longum L.*, синтезирует биологически активное вещество алкалоидной природы — пиперин (piperine) (рис. 1), который обладает высокой антибиотической активностью в отношении возбудителей туберкулёза *Mycobacterium tuberculosis* и *M. smegmatis* с минимальной подавляющей концентрацией 1,74 μM и 2,62 μM соответственно [29].

Из нового вида гриба-эндофита *Mycosphaerella sp. nov.* F2140 получен церкоспорин (cercosporin) (рис. 1). Продуцент выделен из растения *Psychotria horizontalis*. Вещество обладало антипаразитарной активностью *in vitro* в отношении возбудителя малярии (*Plasmodium falciparum*), лейшманиоза (*Leishmania donovani*) и болезни Шагаса (*Trypanosoma cruzi*) [30].

Культура *Pestalotiopsis photiniaе* выделена из растения *Roystonea regia* (Н.В.К.), собранного в горах Китайской Народной Республики образует

семейство фотипирионов (photipyrones). Семейство включает в себя два основных компонента фотипирон А (photipyron A) и фотипирон В (photipyron B), а также их производные LL-P880b, LL-P880v, 1'-гидрокси-4-метокси-6-пентил-2Р-пиран-2-он (1'-hydroxy-4-methoxy-6-pentyl-2H-pyran-2-one), 1',2'-дигидрокси-4-метокси-6-пентил-2Р-пиран-2-он (1',2'-dihydroxy-4-methoxy-6-pentyl-2H-pyran-2-one). По химической структуре фотипирионы представляют собой производные пирина. Все вещества показали цитотоксическую активность в отношении клеточной линии рака человека MDA-MB-231 в IC₅₀ объёмом 40 µM [31].

Группа вторичных метаболитов цитохалазинов, состоящая из трихалазина А (trichalasin A) и трихалазина В (trichalasin B), синтезируется культурой *Trichoderma gamsii*, выделенной из китайского лекарственного растения *Panamax notoginseng*. Данные вещества показали цитотоксическую активность в отношении клеточной линии раковых клеток HeLa в IC₅₀ объёмом 40 µM [32].

Соединения цитоновой кислоты А и В (cytonic acid A, B), синтезирующиеся эндофитным грибом *Cytospora sp.*, ингибируют протеазы человеческого цитомегаловируса (hCMV). Структура данных веществ представлена р-тридепсид изомерами (p-tridepside isomers) [33].

2. Биологически активные вещества из одноклеточных бактерий-эндофитов

Из культуральной жидкости эндофитного штамма *Pseudomonas syringae* получены противогрибные соединения, включающие 4 циклических нонапептидных антибиотика — псевдомицины А-D (pseudomycins A-D). Преобладающий пептид псевдомицин А обладает высокой активностью в отношении патогена человека *Candida albicans*. Все вещества данной группы эффективны в отношении человеческих и растительных грибных патогенов, включая *C. albicans* и *Cryptococcus neoformans* [34].

Из эндофитного штамма *Pseudomonas viridiflava* EB273 получены липопептидные антибиотики экомицины (ecomycins) — экомицины А, В и С (ecomycin A, B, C). Экомицин А близок к уже известному антибиотику синринготоксину (syringotoxin), в то время как экомицины В и С представляют собой уникальный набор связанных липопепти-

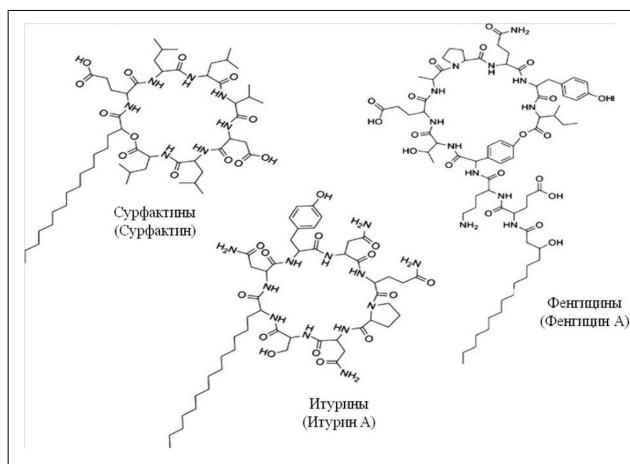


Рис. 2. Структуры основных соединений семейств сурфактинов, итуринов и фенгицинов.

дов, которые включают псевдомицины (pseudomycins), синрингомицины (syringomycins), синрингостатины (syringostatins), синринготоксин (syringotoxin). Изучение других эндофитных штаммов *P. viridiflava* EB274 и EB227 показало, что они также синтезируют противогрибные липопептиды, которые идентичны экомицинам В и С. Эти вещества способны подавлять рост человеческих патогенов *Candida albicans* и *Cryptococcus neoformans* [34].

Известно, что представители рода *Bacillus* синтезируют большое разнообразие антимикробных соединений. Продуцируемые эндофитами *Bacillus subtilis* вещества семейства сурфактинов (surfactins), итуринов (iturins) и фенгицинов (fengycins) (рис. 2) защищают растение-хозяина от ряда патогенов [35]. Циклические липопептиды сурфактины состоят из гептапептидных колец, присоединенных к β-гидрокси-жирным кислотам, образуя лактонное кольцо с 13—15 атомами углерода в цепи. Сурфактины, известные в основном как поверхностно-активные вещества биологического происхождения, обладают гемолитическими, противовирусными и антибактериальными свойствами. Итурины также содержат гептапептидные кольца с аминокислотными последовательностями, отличающимися от сурфактинов числом атомов углерода — от 14 до 17. Итурины обладают ограниченным противовирусным и антибактериальным действием, но в отличие от сурфактинов показывают высокую противогрибковую активность. Фенгицины

Таблица 2. Биологически-активные вещества из одноклеточных бактерий-эндофитов

Активное вещество	Активность	Продуцент	Источник
Псевдомицины А-D	Pseudomycins A-D	Противогрибная	<i>Pseudomonas syringae</i> [34]
Экомицины А, В, С	Ecomycins A, B, C	Противогрибная	<i>Pseudomonas viridiflava</i> EB273 [34]
Сурфактины	Surfactins	Противогрибная	<i>Bacillus subtilis</i> [35]
Фенгицины	Fengycins	Противогрибная	<i>Bacillus subtilis</i> [35]
Итурины	Iturins	Противогрибная	<i>Bacillus subtilis</i> [35]

Таблица 3. Антибиотические вещества из актиномицетов-эндофитов

Активное вещество		Активность	Продуцент	Растение-хозяин	Источник
Мунумбицины A-D	Munumbicins A-D	Широкий спектр действия	<i>Streptomyces</i> NRRL 30562	<i>Kennedia nigricans</i>	[36]
Мунумбицины E-4, E-5	Munumbicins E-4, E-5	Широкий спектр действия	<i>Streptomyces</i> NRRL 3052	<i>Kennedia nigricans</i>	[37]
Какадумицины	Kakadumycins	Широкий спектр действия	<i>Streptomyces</i> sp. NRRL 30566	<i>Grevillea pteridifolia</i>	[39]
Коронамицины	Coronamycins	Противогрибная, <i>Plasmodium falciparum</i>	<i>Streptomyces</i> sp. MSU-2110	<i>Monstera</i> sp.	[40]
Саадамицины	Saadamycin	Противогрибная, в отношении дерматофитов	<i>Streptosporangium oxazolinicum</i> nov. K07-0460	<i>Orchid (root)</i>	[41]
Ксиамицин A	Xiamycin A	Избирательная активность в отношении ВИЧ	<i>Streptomyces</i> sp. GT 2002/1503	<i>Bruguiera gymnorhiza</i>	[42]
Ксиамицин B	Xiamycin B	Антибактериальная, включая MRSA и VREF	<i>Streptomyces</i> sp. HKI0595	<i>Kandelia candel</i>	[38]
Индосеспин	Indosespene	Антибактериальная, включая MRSA и VREF	<i>Streptomyces</i> sp. HKI0595	<i>Kandelia candel</i>	[38]
Сеспенин	Sespenin	Антибактериальная, включая MRSA и VREF	<i>Streptomyces</i> sp. HKI0595	<i>Kandelia candel</i>	[38]
6-пренилиндол	6 - prenylindole	противогрибная	<i>Streptomyces</i> sp. TP-A0595	<i>Allium tuberosum</i>	[38]
Цедармицины A-B	Cedarmycins A-B	Противогрибная	<i>Streptomyces</i> sp. TP-A0456	<i>Cryptomeria japonica</i>	[38]
Лансаи	Lansai A-D	Противовоспалительная	<i>Streptomyces</i> sp. SUC1	<i>Ficus benjamina</i>	[44—46]
3'-диметилдигидро-малдоксин	3'-demethyldihydro-maladoxin	Противовоспалительная	<i>Steganospora</i> sp. IBWFE07110	<i>Robinia pseudoacacia</i>	[47]
Дигидромалдоксин	Dihydromaladoxin	Противовоспалительная	<i>Steganospora</i> sp. IBWFE07110	<i>Robinia pseudoacacia</i>	[47]
Актиномицин D	Actinomycin D	Противогрибная	<i>Streptomyces</i> sp. Tc022	<i>Alpinia galanga</i>	[43]

содержат β -гидрокси-жирные ацильные цепи, связанные с декапептидом восьмью аминокислотами, образующими лактонное кольцо. Жирные ацильные цепи могут быть насыщенными или ненасыщенными, количество атомов углерода в цепи может изменяться от 14 до 18. Фенгицины обладают сильным противогрибковым действием в отношении мицелиальных грибов [35].

3. Антибиотические вещества из актинобактерий-эндофитов

Многие эндофитные актинобактерии, особенно из лекарственных растений, обладают способностью ингибировать рост или вызывать гибель разнообразных патогенных бактерий, грибов и вирусов (табл. 3).

В настоящее время из эндофитных актинобактерий выделена и изучена группа пептидных антибиотиков широкого спектра действия — мунумбицины (munumbicins). Данное семейство включает 6 антибиотиков широкого спектра действия: мунумбицины A-D (munumbicins A-D) и мунумбицины E-4 и E-5 (munumbicins E-4, E-5), продуценты которых выделены из лекарственного растения *Kennedia nigricans*. Мунумбицины A-D синтезируются культурой *Streptomyces* NRRL 30562, а мунумбицины E-4 и E-5 — *Streptomyces* sp.

NRRL 30566 [36, 37]. Все представители семейства мунумбицинов активны в отношении грамположительных бактерий, таких как *Bacillus anthracis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* и *Staphylococcus aureus*, включая метициллин-резистентный штамм *S. aureus* (MRSA, ATCC 33591) и ванкомицин-резистентный штамм *E. faecalis* (VREF, ATCC 51299). Мунумбицин B активен в отношении лекарственно-устойчивого (MDR) *Mycobacterium tuberculosis*. Мунумбицины A и D наряду с активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, также активны в отношении возбудителя малярии *Plasmodium falciparum* [38]. Пептидные антибиотики какадумицины (kakadumycins) синтезируются культурой актиномицета-эндофита *Streptomyces* NRRL30566, выделенной из листьев папоротника *Grevillea pteridifolia*. Какадумицины имеют схожую с мунумбицинами активность широкого спектра действия [39].

Группа пептидных антибиотиков коронамицинов (coronamycins) образуется культурой актиномицета-эндофита *Streptomyces* sp. MSU-2110, выделенной из растения *Monstera* sp. Антибиотики ингибируют рост грибов, а также обладают активностью в отношении возбудителя малярии *P. falciparum* [40]. Культура актиномицета-эндофита *Streptomyces* sp. Hedaya48 синтезирует пептидный

антибиотик саадамицин (saadamycin), обладающий значительной активностью в отношении дерматофитов и других клинических грибов [41].

Первый пентациклический индолосесквитерпеновый (pentacyclic indolosesquiterpene) антибиотик ксиамицин А (xiamycin A) (рис. 3) образуется культурой *Streptomyces* sp. GT 2002/1503, выделенной из растения *Bruguiera gymnorrhiza*. Антибиотик обладает избирательной активностью в отношении вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) [42]. Индолосесквитерпены ксиамицин В (xiamycin B) (рис. 3), индосеспин (indosespene) и сеспенин (sespenin) синтезируются культурой *Streptomyces* sp. НК10595 — эндофита широко распространенного мангрового дерева *Kandelia candel*. Исследования показали, что все вещества группы ксиамицина обладают высокой активностью по отношению к некоторым патогенным бактериям, включая метицилин-резистентный штамм *S. aureus* (MRSA) и ванкомицин-резистентный штамм *E. faecalis* (VREF) [38].

Алкалоидное соединение 6-пренилиндол (6-prenylindole), активное в отношении патогенного гриба *Fusarium oxysporum*, было выделено из культуральной жидкости эндофитного штамма *Streptomyces* sp. TP-A0595, а из эндофитного штамма *Streptomyces* sp. TP-A0456 были получены два новых бутиролактона (butyrolactones) — цедаarmiцины А и В (cedarmycins A-B), активных в отношении грибных патогенов *C. glabrata* с MIC значением 0,4 мМ. Культура была выделена из веточки кедр *Cryptomeria japonica* [38].

Выделенная из корней *Alpinia galanga* культура *Streptomyces* sp. Tc022 сильно ингибировала рост *C. albicans* и *Colletotrichum musae*. Основной компонент экстракта культуральной жидкости *Streptomyces* sp. Tc022 — актиномицин D (actinomycin D) (рис. 3), соединение полипептидной природы [43].

Группа биологически активных веществ лансаи А-Д (lansai A-D) синтезируется эндофитным штаммом *Streptomyces* sp. SUC1, который выделен из фикуса *Ficus benjamina*. Лансаи В (Lansai B) показал слабую активность в отношении клеточной линии BC (IC₅₀ 15,03 мкг/мл), лансаи С (lansai C) также показал значительную противовоспалительную активность в LPS-индуцированных RAW 264.7 клетках [44, 45, 46]. Два соединения диарил-эфиров — 3'-диметилдигидромалдоксин (3'-demethyldihydromaldoxin) и дигидромалдоксин (dihydromaldoxin) образуются культурой *Steganospora* sp. IBWFE07110, полученной из веточек растения *Robinia pseudoacacia*, собранных в Германии. Эти соединения препятствуют активации связывания факторов транскрипции с регуляторными сайтами гена [47].

Противоопухолевые соединения. Помимо антибактериальных и противогрибных антибиотиков из актиномицетов-эндофитов выделены противо-

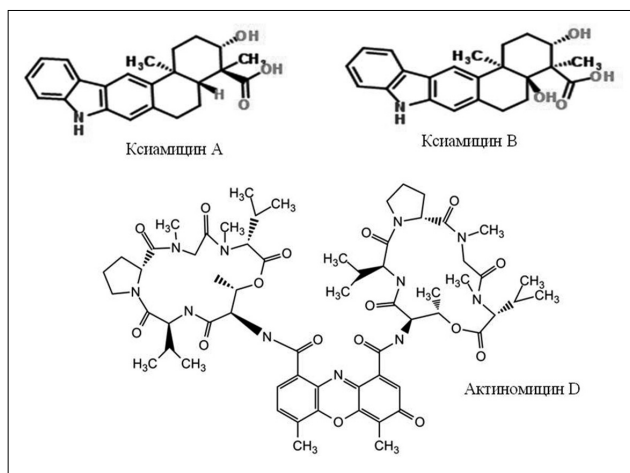


Рис. 3. Структурные формулы некоторых антибиотиков, образуемых актиномицетами-эндофитами.

опухолевые соединения различного химического строения (табл. 4).

Новый хлорсодержащий анзамицин (ansamycin) названный нафтомицином К (naphthomycin K), образуется штаммом актиномицета — эндофита *Streptomyces* sp. CS, выделенного из лекарственного растения *Maytenus hookeri*. Он показал цитотоксическую активность в отношении клеточных линий P388 и A-549 в IC₅₀ 0,07 и 3,17 мМ [48, 49]. Из культуры *Streptomyces* sp. Is9131, который также был выделен из *Maytenus hookeri*, было получено два новых макротетролида — димерный динактин (dimeric dinactin) и димерный нонактин (dimeric nonactin). Результаты анализа биологической активности показали, что димерный динактин обладает высокой противоопухолевой и антибактериальной активностью [50].

Известно, что представители рода *Streptomyces* являются продуцентами макролидных соединений семейства бафиломицинов. Эндофитной культурой *Streptomyces* sp. CS образуются новые производные бафиломицина: 24-диметилбафиломицин C1 (24-demethylbafilomycin C1) и пять новых 16-членных бафиломицина (bafilomycin), показывающих цитотоксическую активность против MDA-MB-435 клеточных линий *in vitro* [51]. Из культуры *Streptomyces* sp. YIM56209, выделенной из здоровых стеблей растения *Drymaria cordata*, получены 11 макролидных антибиотиков этого семейства, обладающих антимикробной, противогрибной и противоопухолевой активностью, а также антипаразитарным и иммунодепрессантным действием [52].

Два соединения из семейства арилкумаринов 5,7-диметокси-4-фенилкумарин (5,7-dimethoxy-4-phenylcoumarin) и 5,7-диметокси-4-п-метоксифенилкумарин (5,7-dimethoxy-4-*p*-methoxyphenylcoumarin) образуются эндофитным штаммом *Streptomyces aureofaciens* CMUAc130 и обла-

Таблица 4. Противоопухолевые соединения из актиномицетов-эндофитов

Активное вещество		Активность	Продуцент	Растение-хозяин	Источник
Нафтомицин К	Naphthomycin K	Противоопухолевая	<i>Streptomyces</i> sp. CS	<i>Maytenus hookeri</i>	[48, 49]
Димерный динактин	Dimeric dinactin	Противоопухолевая	<i>Streptomyces</i> sp. ls9131	<i>Maytenus hookeri</i>	[50]
Димерный нонактин	Dimeric nonactin	Противоопухолевая	<i>Streptomyces</i> sp. ls9131	<i>Maytenus hookeri</i>	[50]
24-диметилбафиломицин C1	24 - demethylbafilmycin C1	Противоопухолевая	<i>Streptomyces</i> sp. CS	<i>Maytenus hookeri</i>	[51]
5,7-диметокси-4-фенил-кумарин	5,7-dimethoxy-4-phenylcoumarin	Противогрибная, противоопухолевая, противовоспалительная	<i>Streptomyces aureofaciens</i> CMUAc130	<i>Zingiber officinale</i> Rosc.	[53—55]
5,7-диметокси-4-п-метоксифенилкумарин	5,7-dimethoxy-4-p-methoxyphenylcoumarin	Противогрибная, противоопухолевая, противовоспалительная	<i>Streptomyces aureofaciens</i> CMUAc130	<i>Zingiber officinale</i> Rosc.	[53—55]
Салацеины А и В	Salaceyins А и В	Противоопухолевая	<i>Streptomyces laceyi</i> MS53	<i>Ricinus communis</i> L.	[56]
Птероцидин	Pterocidin	Противоопухолевая	<i>Streptomyces hygrosopicus</i> TP-A045	<i>Pteridium aquilinum</i>	[57]
Циклогексимид	Cycloheximide	Противоопухолевая	<i>Streptomyces</i> sps. YIM56132	<i>Carex baccaus</i>	[58]
Изо-циклогексимид	Iso-cycloheximide	Противоопухолевая	<i>Streptomyces</i> sps. YIM56141	<i>Carex baccaus</i>	[58]
Секоциклогексимиды А, В	Secocycloheximide А, В	Противоопухолевая	<i>Streptomyces</i> sps. YIM56132	<i>Carex baccaus</i>	[58]

дают противогрибной и противоопухолевой активностью [53, 54, 55].

Штамм *Streptomyces laceyi* MS53 синтезирует 6-алкилсалициловые кислоты (6 — alkylsalicylic acids): салацеины А и В (salaceyins А и В), которые показывают цитотоксичность в отношении линии клеток рака молочной железы человека SKBR3 с IC₅₀ значениями 3,0 и 5,5 мМ соответственно [56].

Из актиномицета-эндофита *Streptomyces hygrosopicus* TP-A045 был выделен птероцидин (pterocidin). Он показал цитотоксичность в отношении некоторых клеточных линий рака человека со значениями IC₅₀ 2,9—7,1 мМ [57].

Из актиномицетов-эндофитов *Streptomyces* sps. YIM56132 и YIM56141 были получены два но-

вых антибиотических вещества — циклогексимид (cycloheximide) и изо-циклогексимид (iso-cycloheximide), а также их производные секоциклогексимиды А и В (secocycloheximide А—В), которые обладают цитотоксическими свойствами и ингибируют синтез белка в клетках [58].

Заключение

Таким образом, микроорганизмы-эндофиты представляют собой богатый и далеко ещё не полностью изученный источник новых природных биологически активных соединений с различными структурами и разнообразным биологическим действием, потенциальных для применения в фармацевтической и биотехнологической практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Strobel G., Bryn Daisy B. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiol mol biol rev* 2003; 67: 4: 491—502
2. Qin S. Xing K., Jiang J.-H., Xu L.-H. Li W.-J. Biodiversity, bioactive natural products and biotechnological potential of plant-associated endophytic actinobacteria. *Appl Microbiol Biotechnol* 2011; 89: 457—473.
3. Qin S., Li J., Chen H.-H., Zhao G.-Z., Zhu W.-Y., Jiang C.-L., Xu L.-H., Li W.-L. Isolation, diversity and antimicrobial activity of rare actinobacteria from medicinal plants of tropical rain forests in Xishuangbanna, China. *China Appl Environ Microbiol* 2009; 75: 6176—6186.
4. Hasegawa S., Meguro A., Shimizu M., Nishimura T., Kunoh H. Endophytic actinomycetes and their interactions with host plants. *Actinomycetologica* 2006; 20: 72—81.
5. Zhang H.W., Song Y.C., Tan R.X. Biology and chemistry of endophytes. *Nat Prod Rep* 2006; 23: 753—771.
6. Gunatilaka A.A.L. Natural products from plant-associated microorganisms: distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence. *J Nat Prod* 2006; 69: 509—526.
7. Guo B., Wang Y., Sun X., Tang K. Bioactive natural products from endophytes: a review. *Appl Biochem Microbiol* 2008; 44: 153—158.
8. Staniek A., Woerdenbag H.J., Kayser O. Endophytes: exploiting biodiversity for the improvement of natural product-based drug discovery. *J Plant Interact* 2008; 3: 75—93.
9. Ryan R.P., Germaine K., Franks A., Ryan D.J., Dowling D.N. Bacterial endophytes: recent development and applications. *FEMS Microbiol Lett* 2008; 278: 1—9.
10. Verma V.C., Gond S.K., Kumar A., Mishra A., Kharwar R.N., Gange A.C. Endophytic actinomycetes from *Azadirachta indica* A. Juss: isolation, diversity, and antimicrobial activity. *Microb Ecol* 2009; 57: 749—756.
11. Verma V.C., Kharwar R.N., Strobel G.A. Chemical and functional diversity of natural products from plant-associated endophytic fungi. *Nat Prod Commun* 2009; 11: 1511—1532.
12. Araujo W.L., Marcon J., Maccheroni W.Jr., Van Elsas J.D., van Vuurde J.W.L., Azevedo J.L. Diversity of endophytic bacterial populations and their interaction with *Xylella fastidiosa* in citrus plants. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 4906—4914.
13. Coombs J.T., Franco C.M.M. Isolation and identification of actinobacteria isolated from surface-sterilized wheat roots. *Appl Environ Microbiol* 2003; 69: 5603—5608.
14. Ryan R.P., Germaine K., Franks A., Ryan D.J., Dowling D.N. Bacterial endophytes: recent development and applications. *FEMS Microbiol Lett* 2008; 278: 1—9.

15. Bascom-Slack C.A., Ma C., Moore E., Babbs B., Fenn K., Greene J.S., Hann B.D., Keehner J., Kelley-Swift E.G., Kembaiyan V., Lee S.J., Li P., Light D.Y., Lin E.H., Schorn M.A., Vekhter D., Boulanger L.A., Hess W.M., Vargas P.N., Strobel G.A., Strobel S.A. Multiple, novel biologically active endophytic actinomycetes isolated from upper Amazonian rainforests. *Microb Ecol* 2009; 58: 2: 374–383.
16. Strobel G. A., Miller R. V., Miller C., Condrón M., Teplow D. B., Hess W. M. Cryptocandin, a potent antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis cf. quercina*. *Microbiology* 1999; 145: 1919–1926.
17. Li J. Y., Strobel G.A., Harper J.K., Lobkovsky E., Clardy J. Cryptocin, a potent tetramic acid antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis cf. quercina*. *Org Lett* 2000; 2: 767–770.
18. Lee J. C., Yang X., Schwartz M., Strobel G., Clardy J. The relationship between an endangered North American tree and an endophytic fungus. *Chem. Biol* 1995; 2: 721–727.
19. Pulici M., Sugawara F., Koshino H., Uzawa J., Yoshida S., Lobkovsky E., Clardy J. Pestalotiopsisin-A and pestalotiopsisin-B: new caryophyllenes from an endophytic fungus of *Taxus brevifolia*. *J Org Chem* 1996; 61: 2122–2124.
20. Zou W. X., Meng J.C., Lu H., Chen G.X., Shi G.X., Zhang T.Y., Tan R.X. Metabolites of *Colletotrichum gloeosporioides*, an endophytic fungus in *Artemisia mongolica*. *J. Nat. Prod.*, 2000, 63:1529–1530
21. Zhang Y., Hao F., Liu N., Xu Y., Jia A., Yang Z., Xia X., Liu C. Stereochemical determination of a new and cytotoxic euphane triterpenoid from the plant endophytic fungus *Phimopsis chimonanthi*. *J Antibiot* 07/08/2013. (doi:10.1038/ja.2013.70).
22. Horn W.S., Simmonds M. S. J., Schwartz R. E., Blaney W.M. Phomopsichalasin, a novel antimicrobial agent from an endophytic *Phomopsis* sp. *Tetrahedron* 1995; 14: 3969–3978.
23. Shiono Y., Nitto A., Shimanuki K., Koseki T., Murayama T., Miyakawa T., Yoshida J., Kimura K. A new benzoxepin metabolite isolated from endophytic fungus *Phomopsis* sp., a new benzoxepin metabolite. *J Antibiot* 2009; 62: 533–535.
24. Wagenaar M.M., Clardy J. Dicerandrols, new antibiotic and cytotoxic dimmers produced by the fungus *Phomopsis longicolla* isolated from an endangered mint. *J Nat Prod* 2001; 64: 8: 1006–1009.
25. Chaesung L., Kim J., Choi J.N., Ponnusamy K., Jeon Y., Kim S.-U., Kim J.G., Hwan Lee C.H. Identification, fermentation, and bioactivity against *Xanthomonas oryzae* of antimicrobial metabolites isolated from *Phomopsis longicolla* S1B4. *J Microbiol Biotechnol* 2010; 20: 3: 494–500.
26. Choi J.N., Kim J., Ponnusamy K., Lim C., Kim J.G., Muthaiya M.J., Lee C.H. Identification of a new phomoxanthone antibiotic from *Phomopsis longicolla* and its antimicrobial correlation with other metabolites during fermentation. *J Antibiot* 2013; 66: 231–233.
27. Weber D., Erosa G., Sterner O., Anke T. Cyliandrocylin A, a new cytotoxic cyclopeptide from *Cylindrocarpum* sp. *J Antibiot* 2006; 59: 8: 495–499.
28. Verma V.C., Lobkovsky E., Gange A.C., Singh S.K., Prakash S. Piperine production by endophytic fungus *Periconia* sp. isolated from *Piper longum* L. *J Antibiot* 2011; 64: 427–431.
29. Moreno E., Varughese T., Spadafora C., Arnold A.E., Coley P.D., Kursar T.A., Gerwick W.H., Cubilla-Rios L. Chemical constituents of the new endophytic fungus *Mycosphaerella* sp. nov. and their anti-parasitic activity. 2011; 6: 6: 835–840.
30. Ding G., Qi Y., Liu S., Guo L., Chen X. Photopyrones A and B, new pyrone derivatives from the plant fungus *Pestalotiopsis photinae*. *J Antibiot* 2012; 65: 271–273.
31. Ding G., Wang H.-L., Chen L., Chen A.-J., Lan J., Chen X.-D., Zhang H.-W., Chen H., Liu X.-Z., Zou Z.-M. Cytochalasans with different amino-acid origin from the plant endophytic fungus *Trichoderma gam-sii*. *J Antibiot* 2012; 65: 143–145.
32. Guo B., Dai J.-R., Ng S., Huang Y., Leong C., Ong W., Carté B.K. Cytotoxic acids A and B: novel tridepside inhibitors of hCMV protease from the endophytic fungus *Cytosphaera* Species. *J Nat Prod* 2000; 63: 5: 602–604.
33. Ballio A., Bossa F., DiGiorgio P., Ferranti P., Paci M., Pucci P., Scaloni A., Segre A., Strobel G.A. Structure of the pseudomycins, new lipodepsipeptides produced by *Pseudomonas syringae* MSU 16H. *FEBS Lett* 1994; 355: 96–100.
34. Harrison L., Teplow D., Rinaldi M., Strobel G.A. Pseudomycins, a family of novel peptides from *Pseudomonas syringae*, possessing broad spectrum antifungal activity. *J Gen Microbiol* 1991; 137: 2857–2865.
35. Miller R. V., Miller C.M., Garton-Kinney D., Redgrave B., Sears J., Condrón M., Teplow D., Strobel G.A. Ecomycins, unique antimycotics from *Pseudomonas viridiflava*. *J Appl Microbiol* 1998; 84: 937–944.
36. Castillo U.F., Strobel G.A., Ford E.J., Hess W.M., Porter H., Jensen J.B., Albert H., Robison R., Condrón M.A.M., Teplow D.B., Stevens D., Yaver D. Munumbicins, wide-spectrum antibiotics produced by *Streptomyces* NRRL 30562, endophytic on *Kennedia nigricans*. *Microbiology* 2002; 148: 2675–2685.
37. Castillo U.F., Strobel G.A., Mullenberg K., Condrón M.M., Teplow D.B., Folgiano V., Gallo M., Ferracane R., Mannina L., Viel S., Codde M., Robison R., Porter H., Jensen J. Munumbicins E-4 and E-5: novel broad-spectrum antibiotics from *Streptomyces* NRRL3052. *FEMS Microbiol Lett* 2006; 255: 296–300.
38. Christina A., Christopher V., Bhore S.J. Endophytic bacteria as a source of novel antibiotics: an overview. *Phcog Rev* 2013; 7: 11–16.
39. Castillo U., Harper J.K., Strobel G.A., Sears J., Alesi K., Ford E., Lin J., Hunter M., Maranta M., Ge H., Yaver D., Jensen J.B., Porter H., Robison R., Miller D., Hess W.M., Condrón M., Teplow D. Kakadumycins, novel antibiotics from *Streptomyces* sp. NRRL 30566, an endophyte of *Grevillea pteridifolia*. *FEMS Microbiol Lett* 2003; 234: 183–190.
40. Ezra D., Castillo U.F., Strobel G.A., Hess W.M., Porter H., Jensen J.B., Condrón M.A.M., Teplow D.B., Sears J., Maranta M., Hunter M., Weber B., Yaver D. Coronamycins, peptide antibiotics produced by a verticillate *Streptomyces* sp. (MSU-2110) endophytic on *Monstera* sp. *Microbiology* 2004; 150: 785–793.
41. El-Gendy M.M.A., EL-Bondkly A.M.A. Production and genetic improvement of a novel antimycotic agent, saadamycin, against dermatophytes and other clinical fungi from endophytic *Streptomyces* sp. Hedaya48. *J Ind Microbiol Biotechnol* 2010; 37: 8: 831–841.
42. Ding L., Muenich J., Goerls H., Maier A., Fiebig H.-H., Lin W.-H., Hertweck C. Xiamycin, a pentacyclic indolosesquiterpene with selective anti-HIV activity from a bacterial mangrove endophyte. *Bioorgan Med Chem Lett* 2010; 20: 22: 6685–6687.
43. Taechowisan T., Wanbanjob A., Tuntiwachwuttikul P., Taylor W.C. Identification of *Streptomyces* sp. Tc022, an endophyte in *Alpinia galanga*, and the isolation of actinomycin D. *Ann Microbiol* 2006; 56: 2: 113–117.
44. Tuntiwachwuttikul P., Taechowisan T., Wanbanjob A., Thadaniti S., Taylor W.C. Lansai A–D, secondary metabolites from *Streptomyces* sp. SUC1. *Tetrahedron* 2008; 64: 7583–7586.
45. Taechowisana T., Wanbanjob A., Tuntiwachwuttikul P., Liu J.K. Anti-inflammatory activity of lansais from endophytic *Streptomyces* sp. SUC1 in LPS-induced RAW 264.7 cells. *Food Agric Immunol* 2009; 20: 67–77.
46. Tuntiwachwuttikul P., Taechowisan T., Wanbanjob A., Thadaniti S., Taylor W.C. Lansai A–D, secondary metabolites from *Streptomyces* sp. SUC1. *Tetrahedron* 2008; 64: 7583–7586.
47. Schreiber D., Jung M., Sandjo L.P., Liermann J.C., Opatz T., Erkel G. 3'-Demethylhydromaldoxin and dihydromaldoxin, two anti-inflammatory diaryl ethers from a *Steganospora* species. *J Antibiot* 2012; 65: 473–477.
48. Lu C.H., Shen Y.M. A new macrolide antibiotic with antitumor activity produced by *Streptomyces* sp. CS, a commensal microbe of *Maytenus hookeri*. *J Antibiot* 2003; 56: 415–418.
49. Lu C.H., Shen Y.M. Two new macrolides produced by *Streptomyces* sp. CS. *J Antibiot* 2004; 57: 597–600.
50. Lu C.H., Shen Y.M. A novel ansamycin, naphthomycin K from *Streptomyces* sp. *J Antibiot* 2007; 60: 649–653.
51. Zhao P.J., Fan L.M., Li G.H., Zhu N., Shen Y.M. Antibacterial and antitumor macrolides from *Streptomyces* sp. Is9131. *Arch Pharm Res* 2005; 28: 1228–1232.
52. Li J., Lu C.H., Shen Y.M. Macrolides of the bafilomycin family produced by *Streptomyces* sp. CS. *J Antibiot* 2010; 63: 10: 595–599.
53. Yu Z., Zhao L.-X., Jiang C.L., Duan Y., Wong L., Carver K.C., Shuler L.A., Shen B. Bafilomycins produced by an endophytic actinomycete *Streptomyces* sp. YIM56209. *J Antibiot* 2011; 64: 159–162.
54. Taechowisan T., Lu C., Shen Y., Lumyong S. Secondary metabolites from endophytic *Streptomyces aureofaciens* CMUAc130 and their antifungal activity. *Microbiology* 2005; 151: 1691–1695.
55. Taechowisan T., Lu C.H., Shen Y.M., Lumyong S. 4-Arylcoumarin inhibits immediate-type allergy. *Food Agric Immunol* 2007; 18: 203–211.
56. Taechowisan T., Lu C.H., Shen Y.M., Lumyong S. Antitumor activity of 4-arylcoumarins from endophytic *Streptomyces aureofaciens* CMUAc130. *J Cancer Res Trer* 2007; 3: 86–91.
57. Kim N., Shin J.C., Kim W., Hwang B.Y., Kim B.S., Hong Y.S., Lee D. Cytotoxic 6-alkylsalicylic acids from the endophytic *Streptomyces laceyi*. *J Antibiot* 2006; 59: 797–800.
58. Igarashi Y., Miura S., Fujita T., Furumai T. Pterocidin, a cytotoxic compound from the endophytic *Streptomyces hygrosopicus*. *J Antibiot* 2006; 59: 193–195.
59. Huang S.-X., Yu Z., Robert F., Zhao L.-X., Jiang Y., Duan Y., Pelletier J., Shen B. Cycloheximide and congeners as inhibitors of eukaryotic protein synthesis from endophytic actinomycetes *Streptomyces* sps. YIM56132 and YIM56141. *J Antibiot* 2011; 64: 163–166.

Молекулярно импринтированные полимеры для пенициллинов и тетрациклинов

М. И. ЯХКИНД¹, К. Р. ТАРАНЦЕВА¹, М. А. МАРЫНОВА¹, П. А. СТОРОЖЕНКО, М. М. РАСУЛОВ²

¹ Пензенская государственная технологическая академия, Пенза

² ГНЦ РФ «Государственный научно-исследовательский институт химии и технологии элементоорганических соединений», Москва

Molecular Imprinted Polymers for Penicillins and Tetracyclines

M. I. YAKHKIND, K. R. TARANTSEVA, M. A. MARYNOVA, P. A. STOROZHENKO, M. M. RASULOV

Penza State Technological Academy, Penza

State Research Institute of Chemistry and Technology of Element Organic Compounds, Moscow

Проведён анализ описанных в литературе молекулярно импринтированных полимеров (МИП) для пенициллинов и тетрациклинов, чтобы оценить возможность использования МИП для сорбционного выделения этих антибиотиков.

Ключевые слова: молекулярно импринтированные полимеры, биосинтетические пенициллины и тетрациклины, сорбционное выделение.

The molecular imprinted polymers (MIPs) for penicillins and tetracyclines described in the literature were analysed with a purpose of evaluating their possible use for the antibiotic sorption isolation.

Key words: molecular imprinted polymers, biosynthetic penicillins and tetracyclines, sorption isolation.

Молекулярно импринтированные полимеры (МИП) получают в результате молекулярного импринтинга — сополимеризации функционального и сшивающего мономеров в присутствии целевой молекулы (шаблона). После удаления такой молекулы из сетчатого полимера в структуре матрицы образуются полости, комплементарные целевой молекуле стереометрически и по расположению активных центров (образующих связи с соответствующими элементами этой молекулы). Вследствие этого МИП обладают высокой селективностью и сорбционной ёмкостью в отношении шаблона и, во многих случаях, наиболее близких к нему по структуре соединений.

Получение МИП, их свойства и применение описаны в обзорах [1, 2]. Среди работ по применению преобладают аналитические, в числе которых твердофазная экстракция (ТФЭ) при предварительной подготовке проб, хроматография, псевдоиммуноанализ (ПИА, МИП-анализ), хемосенсоры. Однако МИП также применяют и для других целей, например, для выделения и очистки целевых продуктов в химической, фармацевтической и биотехнологической промышленности, очистки питьевой и сточной воды, в качестве катализаторов вместо ферментов.

Целью данного обзора является систематизация и анализ описанной к настоящему времени в литературе информации по МИП для пенициллинов и тетрациклинов как одной из основных групп биотехнологических продуктов, чтобы оценить возможность использования МИП для их сорбционного выделения. Обзоров подобного типа нами не обнаружено, однако близкий по тематике обзор, посвященный применению МИП для анализа различных антибиотиков, включая биосинтетические, был опубликован в 2006 году [3].

Применение МИП

МИП для биосинтетических антибиотиков, предназначены для целей, которые можно объединить в три группы — фармацевтическое применение (для выделения субстанций и получения готовых форм), аналитическое применение и очистка различных сред от этих антибиотиков.

Фармацевтическое применение. Сотрудниками Института высокомолекулярных соединений РАН предложены МИП для сорбционного выделения эритромицина А [4–6]. Имеются публикации, посвящённые использованию МИП пенициллина G [7], тирозина [8] и линкомицина А [9] для выделения этих антибиотиков. К этому применению также следует отнести использование МИП сукцинил-L-тирозина для удаления этого побочного продукта при очистке клавулановой кислоты [10, 11].

Что касается готовых форм, то МИП можно использовать в препаратах, назначаемых для перорального применения, с целью замедленного высвобождения антибиотиков [12, 13].

Аналитическое применение. Из работ, рассмотренных в данном обзоре, наибольшее количество связано с МИП, используемыми в качестве сорбентов для твердофазной экстракции (ТФЭ) соответствующих биосинтетических антибиотиков при подготовке проб — когда обнаруживаемое вещество присутствует в незначительных концентрациях и необходимо его предварительное концентрирование, которое в данном случае осуществляется путём сорбции этого вещества на МИП и последующей десорбции.

По нашему мнению, значительный интерес представляет использование МИП в фармацевтической промышленности для выделения продуктов биосинтеза, что является технологически сложной задачей в связи с присутствием в культуральной жидкости заметных количеств различных соединений, мешающих этому процессу. Вследствие высокой селективности МИП в этом случае могут быть предпочтительными сорбентами.

Пенициллины

Получение МИП пенициллина G с функциональным мономером метакриловой кислотой (МАК) блочной полимеризацией¹ для ТФЭ описано в работах [14–17], МИП пенициллина V этого типа — в работе [18]. Кроме того, описано получение подобных МИП пенициллина G дисперсионной полимеризацией, дающей микро сферы [19], и пенициллина V — полимеризацией на магнитных частицах (предварительно обработанных олеиновой кислотой) [20], такие частицы удобны для использования.

МИП пенициллина G [21] и пенициллина V [22] с функциональным мономером МАК используются и для ВЭЖХ, МИП пенициллина G — для радиоизотопного [23] и флуоресцентного конкурентного ПИА [24–27]. Для ПИА также применяются, согласно [23, 26], смеси МАК с метакрилатом (МАО) или 2-гидроксиэтилметакрилатом (ГЭМА). При этом для проведения радиоизотопного ПИА использовали меченный (³H) пенициллин G [23], для флуоресцентного ПИА были синтезированы флуоресцирующие аналоги пенициллина G, содержащие пиреновую группу (пиренилацетил-6-аминопенициллановая кислота (6-АПК), ампициллин и амоксициллин, пиренилбутирил-6-АПК и ампициллин) или дансильную группу (дансил-6-АПК и ампициллин) [24, 26].

В работе [25] также описано получение флуоресцентного МИП пенициллина G, для чего к

МАК добавляли 1% флуоресцирующего мономера N-пиренилметилметакриламида. Его можно использовать для неконкурентного ПИА, поскольку при связывании пенициллина G должно происходить изменение его флуоресценции.

Ещё один флуоресцентный МИП пенициллина G описан в работе [28]. Флуоресцирующий мономер N-этил-4-[N-(4-винилфенил)-гидразинкарбоксамидил]-1,8-нафталымид (замещённый стирол) был синтезирован специально для подобных применений. Полимеризация проводилась в массе или в плёнке на стекле (в последнем случае — после предварительной функционализации поверхности 3-(триметоксисил)-пропилметакрилатом (ТМСПМА) и с добавлением бензилметакрилата при полимеризации). Для полученных образцов наблюдалось гашение флуоресценции при сорбции пенициллина G.

МИП пенициллина G с функциональным мономером N-[3,5-бис-(трифторметил)-фенил]-N'-(4-винилфенил)-мочевинной (замещённым стиролом) в смеси с МАО можно использовать для ТФЭ [29, 30], флуоресцентного ПИА [27, 31], удаления пенициллинов из биологических проб [32]. Из других ароматических виниловых мономеров описано использование 4-винилпиридина для получения МИП пенициллина V для ВЭЖХ [22].

Работы, в которых МИП используются в качестве чувствительных элементов сенсоров, целесообразно рассматривать отдельно от работ, в которых МИП используются как таковые (ТФЭ, ВЭЖХ и т.п.).

Описано получение амперометрического сенсора с использованием измельчённых частиц МИП пенициллина G (функциональный мономер МАК), которые закрепляли на поверхности электрода сенсора при помощи агарозной плёнки, получаемой испарением растворителя [33].

При использовании в качестве функциональных мономеров алкоксисиланов были получены сенсоры с МИП пенициллина G в виде плёнки на поверхности электрода — амперометрические сенсоры с использованием фенилтриметоксисилана (ФТМОС) [34], смеси ФТМОС + 3-аминопропилтриэтоксисилан [35], вольтамперометрический сенсор с использованием смеси ФТМОС + метилтриметоксисилан при электроосаждении плёнки [36].

Некоторые оригинальные работы в рамках данного обзора необходимо рассматривать отдельно. Так, в работе [37] описано покрытие внутренней поверхности кварцевых капилляров для электрофореза МИП пенициллина V. В этом случае на эту поверхность вначале действуют ТМСПМА, который присоединяется с образова-

¹ Если не указано иное (микро сферы, пленка и т. п.), МИП обычно получают блочной полимеризацией в виде твердой массы, которую затем измельчают и отделяют частицы нужного размера.

нием силоксановых связей. После этого действием на прикреплённые пропилметакрилатные группы смесью МАК + ГЭМА получают привитую поли-(2-гидроксиэтилметакрилат)-метакриловую кислоту (полиметакриловую кислоту, часть карбоксильных групп которой эстерифицирована этиленгликолем). Затем на её свободные гидроксигруппы действуют метакриловым ангидридом и получают привитую поли-(этилендиметакрилат)-метакриловую кислоту, которая является макромономером. Далее проводят полимеризацию метакрилатных групп этого макромономера в присутствии пенициллина V и получают соответствующий МИП.

Для пенициллинов обнаружена только одна работа, где МИП пенициллина G (функциональный мономер МАК) используется для выделения этого антибиотика [7].

В целом можно отметить, что число работ, посвящённых МИП пенициллина G, существенно больше числа работ для МИП пенициллина V, что соответствует их объёмам производства и применения.

Тетрациклины

Получение МИП тетрациклина с функциональным мономером МАК для ТФЭ описано в работах [38–42], МИП окситетрациклина и хлортетрациклина — в работах [38] и [18, 43] соответственно. Кроме того, описано получение подобных МИП тетрациклина осадительной полимеризацией, дающей микросферы [44, 45], в виде микро/нано-сфер [46–48], полимеризацией на магнитных наночастицах (после предварительной функционализации ТМСПМА) [49].

В работе [50] МИП окситетрациклина для ТФЭ получали с использованием МАК и стирола полимеризацией на магнитных микрочастицах (предварительно обработанных олеиновой кислотой).

Также были получены молекулярно импринтированные мембраны (МИМ) тетрациклина с измельченными частицами МИП (функциональный мономер МАК), которые включали в поливинилхлоридную (ПВХ) мембрану, получаемую испарением растворителя [51], они предназначены для удаления антибиотиков из водных сред (при этом также использовали смесь тетрациклина и продуктов его разложения, что соответствует нескольким шаблонам).

В отличие от других работ в [52, 53] МИП тетрациклина с использованием МАК были получены в виде не порошка или мембраны, а монолитной колонки, предназначенной для ТФЭ. Также описано получение МИП тетрациклина для ТФЭ с использованием акриламида (АА) (как оптимальный вариант) или МАК полимеризацией на кварцевом волокне (после предварительной функционализации ТМСПМА) [54, 55].

В работе [56] описан способ получения МИП тетрациклина для ТФЭ, в котором используют альтернативный метод получения МИП, отличающийся от описанного в начале обзора и используемого в большинстве рассмотренных работ. При этом методе сначала получают полимер без шаблона, в данной работе сополимер акриловой кислоты (АК) и акрилонитрила без сшивающего агента, который содержит активные группы (в данном случае карбоксильные и нитрильные). Затем в растворе проводят взаимодействие этого полимера (за счёт активных групп) с шаблоном и осаждают полученный МИП, в данной работе — в виде мембраны методом инверсии фаз.

Также описано использование ещё одного акрилового мономера, итаконовой кислоты, для получения МИП хлортетрациклина для ТФЭ, причём этот МИП по своим свойствам превосходил полученный с использованием МАК [43].

Из виниловых ароматических мономеров отмечено только использование 4-винилпиридина для получения МИП тетрациклина полимеризацией на кварцевом волокне, как описано выше [54, 55], но этот МИП уступал полученным с использованием АА и МАК.

Для окситетрациклина описано получение гибридного материала с кремнезёмом [57], т.е. МИП, при получении которого используются как акриловые мономеры, так и алкоксисиланы. Функциональным мономером является МАК, в качестве связующего с кремнезёмом используют ТМСПМА, кремнезём образуется в результате гидролиза тетраэтоксисилана (ТЭОС), который выступает в качестве сшивающего агента, полученный материал предназначен для ТФЭ.

Также описаны МИП тетрациклина для ТФЭ, полученные с использованием только алкоксисиланов — ТЭОС [58–60], ТЭОС, тетраметоксисилана (ТМОС), аллилтриэтоксисилана и других [61, 62]. В последнем случае было обнаружено образование примесей тетрациклина в ходе процесса, что соответствует использованию нескольких шаблонов.

Описан ряд сенсоров, в которых чувствительными элементами являются МИП тетрациклина. С использованием функционального мономера МАК были получены:

- амперометрический сенсор с плёночным покрытием электрода [63, 64];

- амперометрический сенсор с композиционным наночастицами, которые наносили на поверхность электрода высушиванием суспензии [65];

- потенциометрический сенсор, в котором микрочастицы включены в ПВХ-мембрану, получаемую испарением растворителя и затем используемую для получения электрода (также с МИП окситетрациклина и хлортетрациклина) [66–68];

— потенциометрический сенсор, использующий в электроде монолитную колонку (также с МИП окситетрациклина и хлортетрациклина) [69, 70].

Описан потенциометрический сенсор [71], схожий с упомянутым выше [66–68], в котором измельчённые частицы МИП окситетрациклина, полученные с функциональным мономером МАК, АА или их смесью, включены в ПВХ-мембрану, получаемую испарением растворителя. Таким же образом получен подобный сенсор с МИП хлортетрациклина [72].

В работе [73] описан амперометрический сенсор с покрытием электрода плёнкой МИП хлортетрациклина, полученного с использованием аддукта хитозана и глицидилметакрилата (ГМА).

Кроме того, был получен вольтамперометрический сенсор, в котором микрочастицы МИП тетрациклина, полученные осадительной полимеризацией с использованием смеси МАК + ГМА, наносили на поверхность электрода высушиванием суспензии [74]. Также описано два сенсора, в которых при получении МИП тетрациклина использовали ароматические виниловые мономеры — амперометрический с МИП, полученными с использованием стирола [64, 75], подобный рассмотренному выше [63], и потенциометрический с МИП, полученным с использованием 2-винилпиридина [76, 77], подобный описанным в [71, 72].

Еще в одном амперометрическом сенсоре использовали МИП окситетрациклина, полученный в виде плёнки на поверхности электрода электрополимеризацией 2-фенилендиамин [78].

Кроме того, предложены аналитические системы с использованием МИП окситетрациклина, при помощи которых осуществляют ферментный конкурентный ПИА с обнаружением продуктов ферментативной реакции вольтамперометрическим сенсором; в качестве функциональных мономеров при этом использовали МАК [79] (измельченные частицы МИП закрепляли на поверхности электрода при помощи угольной пасты), 2-фенилендиамин [80, 81] и берлинскую лазурь $\text{FeCl}_3 + \text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ [82, 83] (электрополимеризация с образованием плёнки). В работах [79, 80] для анализов использовали окситетрациклин, меченный пероксидазой хрена, а в [81–83] — окситетрациклин, меченный глюкозооксидазой.

Все рассмотренные выше сенсоры были электрохимическими. Однако также описан и фотонный сенсор, использующий МИП тетрациклина, окситетрациклина или хлортетрациклина в виде плёнки (функциональный мономер — смесь АК + АА) [84].

МИП тетрациклина (функциональный мономер МАК) в виде измельченных частиц можно использовать для получения препаратов с замед-

ленным высвобождением [12], для той же цели можно использовать его наночастицы, полученные осадительной полимеризацией [13].

МИП тетрациклинов также используют для ускорения процессов разложения этих антибиотиков в водных средах на диоксиде титана. В работе [85] для этой цели используют МИП тетрациклина с функциональным мономером МАК в виде плёнки на поверхности диоксида титана. В работе [86] используют МИП окситетрациклина (функциональный мономер АА) на композиционных микрочастицах с диоксидом титана, в работе [87] — МИП тетрациклина (мономер 4-винилпиридин) на частицах диоксида титана. В работе [88] поверхность диоксида титана обрабатывали гексафторотитанатом аммония $(\text{NH}_4)_2\text{TiF}_6$ с борной кислотой в присутствии тетрациклина, при этом образуется МИП, в котором полимером является диоксид титана.

Во всех рассмотренных выше работах для каждого МИП использовали один шаблон. Однако для тетрациклинов были предприняты попытки получить МИП с использованием в качестве шаблонов не одного, а одновременно двух и более антибиотиков. Такие МИП предназначены для ТФЭ, когда ставится задача экстрагировать не отдельные антибиотики, а все тетрациклины, которые могут присутствовать в пробах, включая продукты разложения.

В работе [89] описано получение МИП тетрациклина, окситетрациклина и хлортетрациклина, а также МИП с использованием двух шаблонов: окситетрациклин + хлортетрациклин и окситетрациклин + тетрациклин (функциональный мономер МАК, осадительная полимеризация, дающая микрочастицы). Было найдено, что для ТФЭ тетрациклинов лучше всего подходит МИП окситетрациклина + хлортетрациклина, который также изучен в работе [90]. Согласно [91] для получения подобных МИП в качестве функционального мономера можно использовать не только МАК, но и 4-винилпиридин.

В работе [92] описано получение МИП тетрациклина, окситетрациклина и хлортетрациклина, а также МИП с использованием одновременно двух шаблонов (все три возможные комбинации) и трёх шаблонов (функциональный мономер МАК, осадительная полимеризация, дающая частицы), оптимальным и в этом случае был признан МИП окситетрациклина + хлортетрациклина.

Кроме того, МИП окситетрациклина + хлортетрациклина (функциональный мономер МАК) получен полимеризацией на магнитных частицах (предварительно обработанных олеиновой кислотой и додецилбензолсульфатом натрия) [93].

Помимо МИП двух (или трёх) тетрациклинов, описаны МИП с использованием двух шаблонов окситетрациклин + энрофлоксацин (функцио-

нальный мономер МАК) [94], а также МИП этого типа в виде микро/наносфер [95].

Дополнительно следует отметить, что также были получены МИП, в которых шаблонами были одновременно тетрациклин и его примеси. Как уже было упомянуто, при получении МИП тетрациклина для ТФЭ с использованием алкоксисиланов (ТЭОС, ТМОС и других) происходит образование примесей [61, 62]. При этом 4-эпитетрациклин образуется в ходе процесса получения МИП, а ангидротетрациклин и 4-эпиангидротетрациклин — при дополнительной обработке измельчённых частиц МИП триметилхлорсиланом.

А при получении МИМ тетрациклина с измельчёнными частицами МИП (функциональный мономер МАК), включаемыми в ПВХ-мембрану [51], наряду с чистым тетрациклином использовали специально полученную смесь тетрациклина и трёх указанных выше продуктов его разложения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гендриксон О. Д., Жердев А. В., Дзантиев Б. Б. Молекулярно импринтированные полимеры и их применение в биохимическом анализе. Усп биол хим 2006; 46: 149—192.
2. Лисичкин Г. В., Крутяков Ю. А. Материалы с молекулярными отпечатками: синтез, свойства, применение. Усп хим 2006; 75: 998—1017.
3. Fernández-González A., Guardia L., Badía-Laiño R., Díaz-García M. E. Mimicking molecular receptors for antibiotics — analytical implications. Trends Anal Chem 2006; 25: 949—957.
4. Писарев О. А., Ежова Н. М., Гаркушина И. С. Взаимодействие эритромицина с полимерными сорбентами, «настроенными» на молекулу антибиотика. Журн физ хим 2009; 83: 142—146.
5. Ежова Н. М., Гаркушина И. С., Писарев О. А. Синтез новых гидрофильных полимерных сорбентов, несущих импринт-сайты эритромицина. Сорб хром проц 2011; 11: 828—831.
6. Ежова Н. М., Гаркушина И. С., Писарев О. А. Молекулярно-импринтированные гидрофильные сорбенты для селективной сорбции эритромицина. Прикл биохим микробиол 2011; 47: 694—698.
7. Javanbakht M., Pishro K. A., Nasab A. H., Akbari-adegani B. Extraction and purification of penicillin G from fermentation broth by water-compatible molecularly imprinted polymers. Mater Sci Eng C 2012; 32: 2367—2373.
8. Piletsky S., Piletska E., Karim K. et al. Custom synthesis of molecular imprinted polymers for biotechnological application. Preparation of a polymer selective for tylosin. Anal Chim Acta 2004; 504: 123—130.
9. Jiang X., Li W., Zhang Y. et al. Preparation and properties of lincomycin A molecular imprinted polymer microspheres. J Wuhan Inst Technol 2012; 34: 5: 16—19.
10. Патент США 7087748. Process. 2006.
11. Yu Y., Ye L., de Biasi V., Moshbach K. Removal of the fermentation by-product succinyl L-tyrosine from the β -lactamase inhibitor clavulanic acid using a molecularly imprinted polymer. Biotechnol Bioeng 2002; 79: 23—28.
12. Cai W., Gupta R. B. Molecularly-imprinted polymers selective for tetracycline binding. Separ Purif Technol 2004; 35: 215—221.
13. Mirzaei M., Najafabadi S. A. H., Abdouss M. et al. Preparation and utilization of microporous molecularly imprinted polymer for sustained release of tetracycline. J Appl Polym Sci 2013; 128: 1557—1562.
14. Заявка КНР 101139411 (2008). Preparation of molecular imprinted polymer capable of removing penicillin antibiotics in fresh milk.
15. Zhang J., Wang H., Liu W. et al. Synthesis of molecularly imprinted polymer for sensitive penicillin determination in milk. Anal Lett 2008; 41: 3411—3419.
16. Wang H., Zhang J., Mao Z., Ma N. Determination of penicillin residues in milk by molecular imprinting technology. China Dairy Ind 2008; 36: 6: 58—61.
17. Yin J., Meng Z., Du M. et al. Pseudo-template molecularly imprinted polymer for selective screening of trace β -lactam antibiotics in river and tap water. J Chromatogr A 2010; 1217: 5420—5426.
18. Заявка КНР 102135527. Method for detecting antibiotic residue in soil by using matrix solid-phase dispersion technique. 2011.
19. Kempe H., Kempe M. Influence of salt ions on binding to molecularly imprinted polymers. Anal Bioanal Chem 2010; 396: 1599—1606.
20. Zhang X., Chen L., Xu Y. et al. Determination of β -lactam antibiotics in milk based on magnetic molecularly imprinted polymer extraction coupled with liquid chromatography — tandem mass spectrometry. J Chromatogr B 2010; 878: 3421—3426.
21. Kempe H., Kempe M. QSRR analysis of β -lactam antibiotics on a penicillin G targeted MIP stationary phase. Anal Bioanal Chem 2010; 398: 3087—3096.
22. Skudar K., Brüggemann O., Wittelsberger A., Ramström O. Selective recognition and separation of β -lactam antibiotics using molecularly imprinted polymers. Anal Comm 1999 36: 327—331.
23. Cederfur J., Pei Y., Zihui M., Kempe M. Synthesis and screening of a molecularly imprinted polymer library targeted for penicillin G. J Comb Chem 2003; 5: 67—72.
24. Патент Испании 2197811. Síntesis de derivados fluorescentes de antibióticos β -lactámicos. 2005.
25. Moreno-Bondi M. C., Benito-Peña E., San Vicente B. et al. Molecularly imprinted polymers as selective recognition elements for optical sensors based on fluorescent measurements. Transducers'03: 12th Int. Conf on Transducers, Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems, Boston. 2003; 2: 975—978.
26. Benito-Peña E., Moreno-Bondi M. C., Aparicio S. et al. Molecular engineering of fluorescent penicillins for molecularly imprinted polymer assays. Anal Chem 2006; 78: 2019—2027.
27. Moreno-Bondi M. C., Urraca J. L., Benito-Peña E. et al. Molecularly imprinted polymers as biomimetic receptors for fluorescence based optical sensors. Proc. SPIE, 6619, 66190C. 2007.
28. Wagner R., Wan W., Biyikal M. et al. Synthesis, spectroscopic, and analyte-responsive behavior of a polymerizable naphthalimide-based carboxylate probe and molecularly imprinted polymers prepared thereof. J Org Chem 2013; 78: 1377—1389.
29. Urraca J. L., Hall A. J., Moreno-Bondi M. C., Sellergren B. A stoichiometric molecularly imprinted polymer for the class-selective recognition of antibiotics in aqueous media. Angew Chem Int Ed 2006; 45: 5158—5161.
30. Urraca J. L., Moreno-Bondi M. C., Hall A. J., Sellergren B. Direct extraction of penicillin G and derivatives from aqueous samples using a stoichiometrically imprinted polymer. Anal Chem 2007; 79: 695—701.
31. Urraca J. L., Moreno-Bondi M. C., Orellana G. et al. Molecularly imprinted polymers as antibody mimics in automated on-line fluorescence competitive assays. Anal Chem 2007; 79: 4915—4923.

32. Заявка США 2012/070879. Reduction of antibiotic activity or concentration in biological samples using molecularly imprinted polymers. 2012.
33. Заявка КНР 102175733. Method for fast detecting application of molecular imprinted technique in digoxin and penicillin. 2011.
34. Заявка КНР 101762630. Preparation method of molecular imprinted biosensor for on-site quick detection of penicillin. 2010.
35. Li L., Zhang J., Zhao J. *et al.* Preparation of penicillin imprinted membrane electrochemical sensor. *Chin J Bioprocess Eng* 2010; 8: 5: 53—58.
36. Hu Y., Li J., Zhang Z. *et al.* Imprinted sol-gel electrochemical sensor for the determination of benzylpenicillin based on Fe₃O₄@SiO₂/multi-walled carbon nanotubes-chitosans nanocomposite film modified carbon electrode. *Anal Chim Acta* 2011; 698: 61—68.
37. Giovannoli C., Passini C., Baravalle P. *et al.* An innovative approach to molecularly imprinted capillaries for polar templates by grafting polymerization. *J Mol Recognit* 2012; 25: 377—382.
38. Caro E., Marcé R. M., Cormack P. A. G. *et al.* Synthesis and application of an oxytetracycline imprinted polymer for the solid-phase extraction of tetracycline antibiotics. *Anal Chim Acta* 2005; 552: 81—86.
39. Xiong Y., Zhou H., Zhang Z. *et al.* Molecularly imprinted on-line solid-phase extraction combined with flow-injection chemiluminescence for the determination of tetracycline. *Analyst* 2006; 131: 829—834.
40. Yang C.-Y., Xiong Y., He C., Zhang Z.-J. Molecularly imprinted on-line solid-phase extraction combined with flow injection chemiluminescence for determination of chlortetracycline. *Chin J Appl Chem* 2007; 24: 273—277.
41. Заявка КНР 101130580. Tetracycline molecularly imprinted polymer and uses of the same. 2008.
42. Divya M. P., Rajput Y. S., Sharma R. Synthesis and application of tetracycline imprinted polymer. *Anal Lett* 2010; 43: 919—928.
43. Qu S., Wang X., Tong C., Wu J. Metal ion mediated molecularly imprinted polymer for selective capturing antibiotics containing beta-diketone structure. *J Chromatogr A* 2010; 1217: 8205—8211.
44. Jing T., Gao X. D., Wang P. *et al.* Preparation of high selective molecularly imprinted polymers for tetracycline by precipitation polymerization. *Chin Chem Lett* 2007; 18: 1535—1538.
45. Jing T., Gao X.-D., Wang P. *et al.* Determination of trace tetracycline antibiotics in foodstuffs by liquid chromatography — tandem mass spectrometry coupled with selective molecular-imprinted solid-phase extraction. *Anal Bioanal Chem* 2009; 393: 2009—2018.
46. Заявка КНР 101397163. Method for directly purifying tetracycline in water-containing sample by using molecularly imprinted polymer. 2009.
47. Заявка КНР 101402706. Method for preparing tetracycline molecular imprinted polymer used for water environment. 2009.
48. Qu G., Zheng S., Liu Y. *et al.* Metal ion mediated synthesis of molecularly imprinted polymers targeting tetracyclines in aqueous samples. *J Chromatogr B* 2009; 877: 3187—3193.
49. Dai J., Pan J., Xu L. *et al.* Preparation of molecularly imprinted nanoparticles with superparamagnetic susceptibility through atom transfer radical emulsion polymerization for the selective recognition of tetracycline from aqueous medium. *J Hazard Mater* 2012; 205—206: 179—188.
50. Chen L., Liu J., Zeng Q. Preparation of magnetic molecularly imprinted polymer for the separation of tetracycline antibiotics from egg and tissue samples. *J Chromatogr A* 2009; 1216: 3710—3719.
51. Suede R., Srichana T., Chuchome T., Kongmark U. Use of molecularly imprinted polymers from a mixture of tetracycline and its degradation products to produce affinity membranes for the removal of tetracycline from water. *J Chromatogr B* 2009; 811: 191—200.
52. Заявка КНР 101246150. Tetracycline molecular imprinted integral column preparation method. 2008.
53. Sun X., He X., Zhang Y., Chen L. Determination of tetracyclines in food samples by molecularly imprinted monolithic column coupling with high performance liquid chromatography. *Talanta* 2009; 79: 926—934.
54. Hu X., Pan J., Hu Y. *et al.* Preparation and evaluation of solid-phase microextraction fiber based on molecularly imprinted polymers for trace analysis of tetracyclines in complicated samples. *J Chromatogr A* 2008; 1188: 97—107.
55. Hu X., Pan J., Hu Y., Li G. Preparation of molecularly imprinted polymer coatings with the multiple bulk copolymerization method for solid-phase microextraction. *J Appl Polym Sci* 2011; 120: 1266—1277.
56. Trotta F., Baggiani C., Luda M. P. *et al.* A molecular imprinted membrane for molecular discrimination of tetracycline hydrochloride. *J Membr Sci* 2005; 254: 13—19.
57. Lv Y.-K., Wang L.-M., Yang L. *et al.* Synthesis and application of molecularly imprinted poly(methacrylic acid)-silica hybrid composite material for selective solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography determination of oxytetracycline residues in milk. *J Chromatogr A* 2012; 1227: 48—53.
58. Morais E. C., Correa G. G., Brambilla R. *et al.* Silica imprinted materials containing pharmaceuticals as a template: textural aspects. *J Sol-Gel Sci Technol* 2012; 64: 324—334.
59. Morais E. C., Correa G. G., Brambilla R. *et al.* The interaction of encapsulated pharmaceutical drugs with a silica matrix. *Colloids Surfaces B* 2013; 103: 422—429.
60. Morais E. C., Correa G. G., Brambilla R. *et al.* Selective silica-based sorbent materials synthesized by molecular imprinting for adsorption of pharmaceuticals in aqueous matrices. *J Separ Sci* 2013; 36: 636—643.
61. Mojica E.-R. E., Autschbach J., Bright F. V., Aga D. S. Synthesis and evaluation of tetracycline imprinted xerogels: comparison of experiment and computational modeling. *Anal Chim Acta* 2011; 684: 72—80.
62. Mojica E.-R. E., Autschbach J., Bright F. V., Aga D. S. Tetracycline speciation during molecular imprinting in xerogels results in class-selective binding. *Analyst* 2011; 136: 749—755.
63. Заявка КНР 101672820. Thermal polymerization preparation method of tetracycline molecular imprinted polymer membrane electrode. 2010.
64. Заявка КНР 201965114. Instrument for detecting tetracycline concentration in water. 2011.
65. Wang H., Zhao H., Quan X., Chen S. Electrochemical determination of tetracycline using molecularly imprinted polymer modified carbon nanotube-gold nanoparticles electrode. *Electroanalysis* 2011; 23: 1863—1869.
66. Заявка КНР 102116759. Selective electrode of tetracycline drugs and preparation method thereof. 2011.
67. Guo Z. Y., Gai P. P., Duan J. *et al.* Tetracycline selective electrode based on molecularly imprinted polymer particles. *Chin Chem Lett* 2010; 21: 1235—1238.
68. Гай П., Гюо Ж., Янг Ф. и др. Высокочувствительный ион-селективный электрод для определения тетрациклина в образцах воды на основе частиц молекулярно «отпечатанного» полимера. *Электрохимия* 2011; 47: 1005—1013.
69. Заявка КНР 102116758. Tetracycline drug selective electrode and preparation method thereof. 2011.
70. Guo Z., Gai P., Duan J., Zhang H. Study on highly-sensitive tetracycline selective electrode based on molecular imprinted monolithic column. *Chin J Pharm Anal* 2010; 30: 1904—1908.
71. Moreira F. T. C., Kamel A. H., Guerreiro J. R. L., Sales M. G. F. Mant-tailored biomimetic sensor of molecularly imprinted materials for the potentiometric measurement of oxytetracycline. *Biosens Bioelectron* 2010; 26: 566—574.
72. Guerreiro J. R. L., Freitas V., Sales M. G. F. New sensing materials of molecularly-imprinted polymers for the selective recognition of chlortetracycline. *Microchem J* 2011; 97: 173—181.
73. Lian W., Huang J., Yu J. *et al.* A molecularly imprinted sensor based on β -cyclodextrin incorporated multiwalled carbon nanotube and gold nanoparticles-polyamide amine dendrimer nanocomposites combining with water-soluble chitosan derivative for the detection of chlortetracycline. *Food Control* 2012; 26: 620—627.
74. Wang P., Fu X. F., Li J. *et al.* Preparation of hydrophilic molecularly imprinted polymers for tetracycline antibiotics recognition. *Chin Chem Lett* 2011; 22: 611—614.
75. Заявка КНР 101324541. Tetracycline molecular imprinted polymer membrane electrode and preparation and application thereof. 2008.
76. Moreira F. T. C., Guerreiro J. R. L., Azevedo V. L. *et al.* New biomimetic sensors for the determination of tetracycline in biological samples: Batch and flow mode operations. *Anal Methods* 2010; 2: 2039—2045.
77. Moreira F. T. C., Kamel A. H., Guerreiro R. L. *et al.* New potentiometric sensors based on two competitive recognition sites for determining tetracycline residues using flow-through system. *Procedia Eng* 2010; 5: 1200—1203.
78. W. Lian, S. Liu, J. Yu *et al.* Determination of oxytetracycline with a gold electrode modified by chitosan-multiwalled carbon nanotube multilayer films and gold nanoparticles. *Anal Lett* 2013; 46: 1117—1131.

79. Chen Z.-Q., Li J.-P., Li Y.-P. A strategy for constructing sensitive and renewable molecular imprinted carbon paste sensor. *Chin J Anal Chem* 2011; 39: 1009—1014.
80. Li J., Jiang F., Wei X. Molecularly imprinted sensor based on an enzyme amplifier for ultratrace oxytetracycline determination. *Anal Chem* 2010; 82: 6074—6078.
81. Li J., Jiang F., Li Y., Chen Z. Fabrication of an oxytetracycline molecular-imprinted sensor based on the competition reaction via a GOD-enzymatic amplifier. *Biosens Bioelectron* 2011; 26: 2097—2101.
82. Li J., Li Y., Zhang Y., Wei G. Highly sensitive molecularly imprinted electrochemical sensor based on the double amplification by an inorganic Prussian blue catalytic polymer and the enzymatic effect of glucose oxidase. *Anal Chem* 2012; 84: 1888—1893.
83. Заявка КНП 102621216. Method for detecting trace oxytetracycline with double-amplification-effect molecular imprinting electrochemical sensor. 2012.
84. Wang L.-Q., Lin F.-Y., Yu L.-P. A molecularly imprinted photonic polymer sensor with high selectivity for tetracyclines analysis in food. *Analyst* 2012; 137: 3502—3509.
85. Lu N., Chen S., Wang H. *et al.* Synthesis of molecular imprinted polymer modified TiO₂ nanotube array electrode and their photoelectrocatalytic activity. *J Solid State Chem* 2008; 181: 2852—2858.
86. Huo P., Lu Z., Liu X. *et al.* Preparation molecular/ions imprinted photocatalysts of La³⁺@POPD/TiO₂/fly-ash cenospheres: Preferential photodegradation of TCs antibiotics. *Chem Eng J* 2012; 198—199: 73—80.
87. Liu X., Lv P., Yao G. *et al.* Microwave-assisted synthesis of selective degradation photocatalyst by surface molecular imprinting method for the degradation of tetracycline onto Cl-TiO₂. *Chem Eng J* 2013; 217: 398—406.
88. Wang H., Wu X., Zhao H., Quan X. Enhanced photocatalytic degradation of tetracycline hydrochloride by molecular imprinted film modified TiO₂ nanotubes. *Chin Sci Bull* 2012; 57: 601—605.
89. Jing T., Wang Y., Dai Q. *et al.* Preparation of mixed-templates molecularly imprinted polymers and investigation of the recognition ability for tetracycline antibiotics. *Biosens Bioelectron* 2010; 25: 2218—2224.
90. Jing T., Niu J., Xia H. *et al.* Online coupling of molecularly imprinted solid-phase extraction to HPLC for determination of trace tetracycline antibiotic residues in egg samples. *J Separ Sci* 2011; 34: 1469—1476.
91. Заявка КНП 101857664. Preparation method of molecular imprinted polymer with specific recognition capability to tetracycline family. 2010.
92. Gong G., Jia L., Li H., Qi X. Preparation and characterization of molecular imprinted polymers of tetracycline antibiotics by mixed-templates. *Appl Mech Mater* 2012; 128—129: 407—410.
93. Kong J., Wang Y., Nie C. *et al.* Preparation of magnetic mixed-templates molecularly imprinted polymer for the separation of tetracycline antibiotics from egg and honey samples. *Anal Methods* 2012; 4: 1005—1011.
94. Заявка КНП 101650335. Molecularly imprinted membrane detecting device for tetracycline and preparation and detection methods thereof. 2010.
95. Заявка КНП 101397355. Method for preparing molecular imprinted polymer capable of identifying oxytetracycline and enrofloxacin. 2009.

Вклад кировских микробиологов в разработку производства пенициллина и стрептомицина (к 70-летию создания технологии глубинного получения первых отечественных антибиотиков)

М. К. БАКУЛИН, А. С. ТУМАНОВ, В. М. БАКУЛИН, В. Б. КАЛИНИНСКИЙ

Вятский государственный университет, Киров

Contribution of Microbiologists of Kirov City to Development of Penicillin and Streptomycin Production Processes (70 Years Since Development of Technology for Submerged Production of First Domestic Antibiotics)

M. K. BAKULIN, A. S. TUMANOV, V. M. BAKULIN, V. B. KALININSKY

Vyatka State University, Kirov

Статья приурочена к 70-летию разработки технологии глубинного получения первых отечественных антибиотиков и представляет обзор данных литературы о вкладе кировских микробиологов, главным образом сотрудников НИИ эпидемиологии и гигиены Красной Армии (ныне — филиал федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации», г. Киров), в разработку производства пенициллина и стрептомицина.

Ключевые слова: обзор литературы, антибиотики, пенициллин, стрептомицин, глубинное культивирование.

The publication is concerned with development of the technological processes for submerged production of the first domestic antibiotics 70 years age. The literature data on the contribution of the microbiologists of the Kirov City and mainly the workers of the Red Army Research Institute of Epidemiology and Hygiene (nowadays Central Research Institute No. 48 of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Kirov), to development of the manufacture processes for production of penicillin and streptomycin are reviewed.

Key words: literature review, antibiotics, penicillin, streptomycin, submerged cultivation.

Первые научные данные по антибактериальной активности микромицетов рода *Penicillium* были опубликованы в 1871—1872 гг. по результатам экспериментальных исследований двумя российскими учеными В. А. Манассеиным и А. Г. Полотебновым, которые, будучи в научной командировке в Вене, совместно работали в микологической лаборатории Д. Визнера и изучали микроскопические грибки рода *Penicillium* (главным образом *P. glaucum* и *P. crustaceum*), описали их культурально-морфологические и другие основные свойства, в том числе — противобактериальные [1, 2]. Спустя более полувека профессор бактериологии Лондонского университета англичанин А. Флеминг сделал эпохальное открытие (удостоен Нобелевской премии в 1945 году) антибактериальных свойств микромицета, идентифицированного позднее как *P. notatum*, назвав выделяемое микромицетом вещество пенициллином, отмечая, что «...это может быть эффективный анти-

септик для подавления чувствительных к пенициллину микробов...» [3]. Спустя два года А. Флеминг пишет, что «...вполне вероятно, что он (пенициллин) или вещество сходной природы может быть использовано при обработке септических ран...», не ссылаясь на работы А. Г. Полотебного, показавшего лечебное действие пеницилла на гнойные раны за шестьдесят лет до данной публикации [4]. Следует отметить, что сам термин «антибиотики» предложил в 1942 году С. Ваксман — ученый российского происхождения (родился под Киевом и окончил с отличием Одесскую гимназию), эмигрировавший из России в США и возглавивший в 1940 году Рутгерсовский университет в Нью-Брунсуике, работая в котором участвовал в разработке актиномицина, стрептомицина, неомицина и других антибиотиков (удостоен Нобелевской премии в 1952 году) [5].

После публикаций А. Флеминга работы по изучению свойств пенициллина длительное время не выходили за рамки лабораторий и только с 1940 года появляется ряд публикаций группы ученых Оксфордского университета о возможности

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: E-mail: milevolu@mail.ru

выращивания *P.notatum* на синтетических средах, способам выделения, очистки и концентрации и получения пенициллина [6—9].

Полученные блестящие результаты при применении пенициллина с лечебной и профилактической целью, послужили толчком к развертыванию массового производства пенициллина. Востребованность в этом лечебном препарате была колоссальна. Она диктовалась потоками раненых с театров боевых действий второй мировой войны и требованиями военной медицины иметь на своем вооружении препарат, позволяющий максимально сохранить человеческие жизни и сократить срок пребывания больных и раненых в госпиталях [10].

Отсутствие экономической и технической возможности наладить в тот период производство пенициллина в Англии, крупные центры которой подвергались постоянным бомбардировкам, заставили разработчиков пенициллина во главе с профессором Г. В. Флори переехать в США, где работы были продолжены на более высоком научном и промышленном уровне при интенсивном финансировании государством. Как сообщал американский журнал медицинской ассоциации в редакционной статье, было создано и расширено производство на базе ряда крупнейших фармацевтических фирм (Merck, Pfizer, Abbott и др.), ставших пионерами в деле налаживания выпуска пенициллина, к деятельности которых были привлечены десятки более мелких предприятий, получивших для этих целей миллионные субсидии правительства США [11].

В короткий срок лабораторные технологии поверхностного выращивания гриба-продуцента пенициллина, не позволявшие обеспечить пенициллином потребности армий воюющих стран, были заменены разработанными промышленными технологиями глубинного культивирования продуцента, разработаны технологические этапы производства, спроектированы и запущены мощные предприятия по выпуску пенициллина. R. D. Coghill писал по этому поводу: «Редко случается, чтобы какой-нибудь предмет вызывал такой интерес для научного и светского мира, как пенициллин.... Продукт скромной плесени, с которой всего несколько лет назад стремились скорее бороться, чем культивировать её, он чудесно оделся в одежду заводов стоимостью в 20 миллионов долларов...» [12]. Вместо кустарных производств, которые были созданы в 1942 году, в 1944 вырастают большие промышленные предприятия, механизированные по последнему слову техники, был введен в строй крупнейший в мире (по тем временам) завод в Перр-От с производительностью около 500 кг готового сухого пенициллина, а всего в это время в северной Америке был создан 21 завод, которые позволили снизить

в короткий срок стоимость 100 тыс. ОЕ (оксфордских единиц) пенициллина с 20,0 до 3,5 долларов и обеспечить США выпуск 90% всей мировой продукции пенициллина [13].

В 1942 году в Москве были получены из Лондона короткие секретные донесения от Н. И. Гращенко о результативности работ по пенициллину [цит по 14]. И с этого времени ситуация с работами по пенициллину в какой то мере повторяет историю работ по созданию ядерного оружия в СССР. В области создания антибиотиков «Курчатовым» З. В. Ермольева, обладавшая необычайно широким кругозором, стажировавшаяся в Институте Пастера в Париже и в институте Коха в Берлине, которая в течение 15 лет до начала отечественных работ по пенициллину занималась изучением разных антибактериальных агентов [15]. С октября 1942 года она возглавила в Советском Союзе разработку проблемы, связанной с получением пенициллина. Многие вопросы по данной проблеме были решены в руководимой ею экспериментально-производственной лаборатории биохимии микробов Всесоюзного института экспериментальной медицины (ВИЭМ), в частности сотрудниками этой лаборатории был выделен первый отечественный штамм-продуцент (*P.crustosum*) пенициллина и получены первые партии отечественного препарата — крустолина, изучены его свойства, показана высокая терапевтическая эффективность [16, 17].

В 1942—1943 годах пенициллин в СССР производили в ограниченных количествах поверхностным способом, что не позволяло наладить массовый выпуск отечественного пенициллина и сдерживало широкое использование антибиотика на фронте. Масштабирование производства отечественного пенициллина существенно тормозилось отсутствием собственной технологии и возможности использовать опыт американской промышленности вследствие засекреченности технологических процессов производства в США и нежеланием предоставить или продать Советскому Союзу научно-техническую документацию на производство этого антибиотика.

Исходя из практической важности пенициллина для нужд фронта, была создана и направлена в США делегация из ведущих специалистов страны для приобретения лицензии на производство препарата. В результате переговоров за лицензию была запрошена очень высокая (по тем временам) цена — 10 млн долларов [10]. Было решено купить её. Однако когда советская делегация готова была подписать соглашение, её членам сообщили, что цена будет не 10, а 20 млн долларов, т. е. американцы запросили за лицензию сумму, равную стоимости всех построенных в США к концу 1944 г. предприятий по производству пенициллина. В результате обсуждения этого вопроса в Правитель-

стве было решено заплатить и эту сумму и закупить лицензию. Однако вновь последовали отказ на продажу нам лицензии и новое повышение цены на неё. Как вспоминал заместитель Министра медицинской промышленности А. Г. Натрадзе: «Когда комиссия вернулась, мы уже имели отработанный метод глубинного выращивания гриба. Таким образом, мы, независимо от того, что делалось за рубежом, сами своими силами создали у себя с помощью наших ученых глубинный метод...» [цит. по 10].

В 1943 г. Фармакологический комитет принимает по докладу З. В. Ермольевой решение о разрешении медицинского применения пенициллина и, одновременно с направлением делегации в США для приобретения лицензии на его производство, перед кировским НИИ эпидемиологии и гигиены Красной Армии (НИИЭГ Красной Армии, ныне филиал федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации», г. Киров) была поставлена задача: срочно отработать технологию и наладить массовое производство пенициллина для нужд фронта [10].

Уже в 1944 году кировские микробиологи направили в госпитали фронтового подчинения первые партии пенициллина. На первом этапе исследований была применена разработанная З. В. Ермольевой технология, основанная на использовании поверхностного способа выращивания культур гриба в матрацах. Данный способ не мог обеспечить колоссальные потребности в препарате. Поэтому при создании метода большеобъемного производства антибиотика специалистами института было уделено разработке метода глубинного культивирования продуцента пенициллина, который был создан и использовался кировскими микробиологами для вакцинного производства с 1935 г.

В итоге интенсивной работы коллектива микробиологов НИИЭГ Красной Армии уже в 1944 году была разработана технология промышленного производства пенициллина глубинным способом, которая была сразу же передана в гражданские институты и предприятия Министерства здравоохранения и пищевой промышленности. Результаты этих исследований описаны в 1946 г. в диссертационной работе М. Н. Бакиной [18]. Приехавший в 1944 году в Москву профессор Г. В. Флори был весьма удивлен практическими достижениями советских исследователей и результатами сравнения эффективности советского и американского препаратов.

Из большого числа исследованных в НИИЭГ Красной Армии штаммов микромицетов рода *Penicillium* в качестве основного производственного штамма было рекомендовано применять

P. chrysogenum 23248, который по своей активности превосходил американский штамм-продуцент.

Микробиологами и технологами института была разработана система методов, позволяющая надежно сохранять в течение длительного времени производственные штаммы микроорганизмов рода *Penicillium* без присущей им диссоциации и снижения продукции антибиотика, а также осуществлять постоянный контроль кондиционности производственных штаммов. В ходе разработки оптимальных условий глубинного выращивания плесневых грибов использовались методы и аппаратура, созданные ранее в НИИЭГ. Глубинное выращивание проводили в специальных аппаратах-культиваторах системы НИИЭГ конструкции инженера-подполковника А. В. Крутикова, которые позволяли производить выращивание продуцента в глубине питательной среды при постоянной аэрации с соблюдением условий полной асептики. Аппараты готовились из металла, имели постоянный обогрев, позволяющий точно поддерживать необходимую температуру — $23 \pm 1^\circ\text{C}$, и обеспечивали возможность легко, не нарушая стерильности, отбирать пробы для определения нарастания концентрации пенициллина. Для снабжения растущих культур кислородом на дне аппаратов устанавливались барботеры, через которые подавался стерильный воздух.

В ходе исследований было показано, что форма барботеров оказывала существенное влияние на выход антибиотика. Экспериментальным путём была обоснована целесообразность использования секторных барботеров. Воздух, подаваемый в аппараты, стерилизовали пропусканием через специальные ватные фильтры, подачу воздуха и скорость аэрации регулировали путём создания в аппаратах разрежения (оптимальная скорость аэрации составляла 1 л воздуха на 1 л среды). Жидкую питательную среду готовили непосредственно в аппарате, стерилизовали под давлением и охлаждали холодной водой, циркулирующей в рубашке аппарата. Для обеспечения максимального выхода пенициллина при глубинном выращивании продуцента важную роль играет используемая питательная среда. Экспериментальными исследованиями было установлено, что из всего многообразия известных к тому времени сред наиболее оптимальной для этой цели оказалась усовершенствованная среда Чапек-Докса с дрожжевой водой и лактозой, при pH 4,5–4,7.

Для приготовления посевного материала использовали двухсуточную аэрированную культуру в количестве 7,5% к общему количеству засеваемой среды. Предотвращение образования пены в процессе аэрации культуры гриба-продуцента достигалось применением молока (0,5% от объёма питательной среды). В качестве защитного

компонента от посторонней микрофлоры использовали борную кислоту.

Созданная технология глубинного получения пенициллина обеспечивала накопление антибиотика в среднем в количестве до 256 оксфордских единиц (ОЕ) в 1 см³ культуральной жидкости при снижении потерь пенициллина в процессе ферментации до 3,5%. Продолжительность культивирования составляла 6—8 суток. За кратчайший срок (2 месяца) специалистами института было выпущено 10 тонн нативного пенициллина.

Значительный вклад внесли специалисты НИИЭГ в технологию выделения и очистки пенициллина. Было установлено, что мицелий гриба-продуцента содержит эндотоксин, растворимый только в некоторых органических растворителях. Для предупреждения возможности перехода эндотоксина в готовый продукт в процессе очистки пенициллина рекомендовано использовать фильтрацию культуральной жидкости через фильтр-пресс Зейца для освобождения от элементов гриба. В ходе экспериментальных исследований была создана технология очистки и концентрирования нативного пенициллина до 16—20 тыс. ОЕ/мл с помощью усовершенствованного учеными НИИЭГ метода с использованием бисульфита натрия и органических растворителей (амилацетат, хлороформ). В результате этого обеспечивалась возможность получения сухого порошкообразного готового препарата пенициллина в количестве 65% от нативного, содержащего 800—1300 ОЕ/мг, не вызывающего побочных эффектов и легко переносимого больными при парентеральном введении в больших дозах.

В результате комплексных исследований, проведенных специалистами НИИЭГ, была осуществлена разработка глубинного метода производства пенициллина, охватывающая практически все важнейшие вопросы, в том числе: выбор производственного штамма, его поддержание и воспроизводство, технологию получения нативного пенициллина в аппаратах-культиваторах специальной конструкции, оптимизацию питательной среды и условий выделения и очистки антибиотика, что обеспечило возможность резкого повышения объемов производства пенициллина, удешевления стоимости антибиотика и улучшения качества готового препарата. По завершению исследований усовершенствованная технология и соответствующая документация в полном объеме были переданы в гражданское здравоохранение для промышленного освоения.

Следует отметить, что эффективность данной работы явилась следствием того, что военные микробиологи использовали богатый опыт, накопленный в стране и за рубежом, а также в институте. Постоянным консультантом исследований была профессор З. В. Ермольева, которая неодно-

кратно приезжала в институт и находилась в курсе проводившихся работ, что обеспечило возможность последующего быстрого внедрения результатов исследований в практику.

Опыт, приобретённый в ходе разработки технологии глубинного производства пенициллина, послужил основой создания в НИИЭГ Красной Армии в 1945—1947 гг. способа получения отечественного стрептомицина. Военными микробиологами были разработаны питательные среды для культивирования *Actinomyces (Streptomyces) griseus* и биосинтеза стрептомицина поверхностными и глубинными культурами, методы очистки антибиотика и его получения в сухом виде, а также контроля качества готового препарата. Данная технология обеспечивала возможность получения стрептомицина в производственных условиях с выходом готового продукта в количестве 30% от нативного с содержанием в сухом препарате до 700 мкг стрептомицина основания в 1 мг.

Одновременно с решением технологических задач в опытах на животных и добровольцах были отработаны профилактические и терапевтические дозы стрептомицина, рациональные лекарственные формы и схемы его применения при таких заболеваниях, как чума, дизентерия, дифтерия. Стрептомицин, полученный по разработанной глубинной технологии, был успешно использован советскими медиками при ликвидации эпидемии чумы в Маньчжурии в 1948 г. Разработки сотрудников НИИЭГ Красной Армии были в последующем переданы в Минздрав СССР для промышленного освоения.

Вклад кировских микробиологов в разработку технологии производства пенициллина и стрептомицина был высоко оценен руководством страны. В 1948 г. за решение этой проблемы лауреатами Сталинской премии стали Н. Ф. Копылов, Н. Н. Гинсбург, М. М. Файбич, А. С. Груденков, М. В. Алтухов, И. В. Птушкин, П. Ф. Романов, правительственные награды получили Г. А. Радовицкий, А. А. Свиридов, Р. Ф. Карнев, Н. И. Николаев, М. Н. Бакина [10].

Продолжают исследования по совершенствованию технологий получения антибиотиков и современное поколение кировских микробиологов. Одним из результативных направлений поиска стало использование при глубинном культивировании продуцентов антибиотиков перфторорганических соединений (ПФОС) с газотранспортной функцией производства ОАО Кирово-Чепецкого химкомбината им. Б. П. Константинова [19—24]. Жидкие ПФОС обладают рядом уникальных свойств: выраженной способностью растворять газы (до 50 об. % кислорода и до 200 об. % углекислого газа) и модифицировать мембраны клеток, облегчая тем самым транспорт веществ через них, что позволило использовать их в медицине в

составе кровезаменителей, в том числе отечественного перфторана. Проведя аналогию снабжения организма человека газами и продуктами питания посредством крови и глубинной культуры микроорганизмов в ферментёре посредством

аэрируемой жидкой питательной среды, была показана возможность существенного увеличения в присутствии ПФОС выхода биомассы антибиотикопродукторов разных групп и самих антибиотиков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Манассеин В. А. Об отношении бактерий к зеленому кистевнику (*Penicillium glaucum* L.K.S. и *Penicillium crustaceum* F.R.S.) и о влиянии некоторых средств на развитие этого последнего. Воен мед журн 1871; 112: 9—10: 29—138.
2. Полотебнов А. Г. Патологическое значение плесени. Мед вестн 1872; 34-52: 273—459.
3. Fleming A. On the antibacterial action of cultures of *Penicillium*; with special reference to their use in the isolation of *B.influenza*. Brit J Exp Path 1929; 10: 226—236
4. Fleming A. Some problems in the use of antiseptics. Brit, Dent, J. 1931; 52: 105—117.
5. Шлегель Г. Г. История микробиологии: Пер. с нем. М.: Едиториал УРСС. 2006; 229.
6. Abraham E. P., Chain E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. Nature 1940; 146: 837.
7. Abraham E. P. Mode of action of chemotherapeutic agents. Lancet 1941; 2: 762.
8. Abraham E. P., Chain E. Purification and some physical and chemical properties of penicillin with a note on the spectrographic examination of penicillin preparations by E. R. Holiday. Brit J Exp Path 1942; 23: 103—119.
9. Florey H. W., Jennings M. A. Some biological properties of highly purified penicillin. Brit J Exp Path 1942; 23: 120—123.
10. Васильев Н. Т., Пименов Е. В., Калининский В. Б., Бакулин М. К. Вклад военных медиков в разработку технологий промышленного производства первых отечественных антибиотиков. Антибиотики и химиотер 1996; 41: 4: 3—6.
11. Appreve expansion of firms for manufacture of penicillin. J Am Med Ass 1943; 123: 2.
12. Coghill R.D. Penicillin. Chem Eng News 1944; 22: 8: 588—593.
13. Callaham J. R. Penicillin large-scale production by deep fermentation. Chem Met Eng 1944; 51: 4: 94-98; 130—135
14. Навашин С. М. Зинида Виссарионовна Ермольева. М.: 1998; 20.
15. Ермольева З.В. Пенициллин. М.: 1946; 158.
16. Ермольева З. В. Пенициллин и его применение. Совет мед 1944; 7—8: 1—3.
17. Ермольева З. В., Маршак А. Ю., Каплун Т. И., Левитов М. М. Пенициллин и его применение при септических и гнойных осложнениях ранений. Клини мед 1944; 22 : 39—45.
18. Бакина М. Н. Экспериментальная разработка вопросов промышленного производства пенициллина: дис. ... канд. мед. наук. Киров. 1946; 176.
19. Бакулин М. К., Кучеренко А. С., Бакулина Л. В., Шведов В. В. Влияние перфторорганических соединений на рост стрептомицетов и биосинтез ими антибиотика даунорубицина. Антибиотики и химиотер 2003; 48:12: 5—8.
20. Бакулин М. К., Грудцына А. С., Плетнева А. Ю. Интенсификация роста микромицетов рода *Penicillium* и синтеза ими пенициллина в жидкой среде под влиянием карбогала и перфтордекалина. Актуал пробл биол мед экол 2004; 3: 2: 309—310.
21. Бакулин М. К., Плетнева А. Ю., Грудцына А. С. Влияние перфторорганических соединений на рост стрептомицетов и биосинтез ими рубомицина Актуал пробл биол мед экол 2004; 3: 2: 310—311.
22. Бакулин М. К., Грудцына А. С., Плетнева А. Ю., Кучеренко А. С., Бакулина Л. В., Шведов В. В. Характеристика антибиотической продуктивности бактерий рода *Streptomyces* при культивировании в среде с добавлением карбогала и перфторметилдекалина. Биотехнология 2006; 5: 39—44.
23. Бакулин М. К., Дармова С. В., Бакулин В. М., Шведов В. В. Интенсификация биосинтеза даунорубицина и роста *Streptomyces purpurogeniscleroticus* под влиянием перфтор-1,3-диметилциклогексана. Ветеринар мед 2010; 3—4: 16—19.
24. Бакулин В. М., Мартинсон Е. А., Бакулин М. К., Тихонов И. В. Влияние перфтордекалина на рост и антибиотическую активность культур *Streptomyces albus* и *S.rimosus* в жидкой среде. Ветеринар мед 2012; 3—4: 15—17.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СВЯЗЬ МЕЖДУ ГЕНАМИ, РЕГУЛИРУЮЩИМИ РЕАКЦИЮ НА ОСМОТИЧЕСКИЙ СТРЕСС, И ГЕНАМИ ТРАНСПОРТЁРОВ МУЛЬТИЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ: НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПОИСКА АНТИБИОТИКОВ.

FUNCTIONAL LINKAGE BETWEEN GENES THAT REGULATE OSMOTIC STRESS RESPONSES AND MULTIDRUG RESISTANCE TRANSPORTERS: CHALLENGES AND OPPORTUNITIES FOR ANTIBIOTIC DISCOVERY/ B. E. COHEN* // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY FEBRUARY 2014; 58: 2: 640—646.

Все клетки защищаются от осмотического воздействия окружающей среды за счёт поддержания низкой проницаемости ионов через клеточные мембраны. Основным принцип функционирования клетки выражается во взаимодействии генов транспорта ионов с генами выброса лекарств, которое возросло в процессе эволюции клетки. Так, при экспозиции с такими порообразующими антибиотиками, как амфотерицин В (АмВ) или даптомицин (Дап), чувствительные клетки увеличивают экспрессию генов устойчивости, чтобы защититься от дополнительного осмотического воздействия. Эти гены взаимодействуют с различными генами транспортёров множественной лекарственной устойчивости (MDR) таким образом, что сохраняют исходный липидный состав мембраны и в то же время удаляют разрушенные гидрофобные молекулы, в большом количестве находящиеся в двойном липидном слое. Углубленное понимание отношений между генами (и их продуктами), регулирующими реакцию на осмотическое воздействие, и генами MDR транспортёров поможет определить новые стратегии и мишени, чтобы преодолеть застой в области поиска и разработки новых лекарственных средств.

* National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Division of Extramural Activities, Bethesda, Maryland, USA.

НОВЫЕ ИНГИБИТОРЫ БЕТА-ЛАКТАМАЗ: ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ РЕНЕССАНС В ОБЛАСТИ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ. ОБЗОР.

NEW B-LACTAMASE INHIBITORS: A THERAPEUTIC RENAISSANCE IN AN MDR WORLD / S. M. DRAWZ, K. M. PAPP-WALLACE, R. A. BONOMO* // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY APRIL 2014; 58: 4: 1835—1846.

Число случаев инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями, в отношении которых

остаётся малоэффективных способов лечения, продолжает увеличиваться, и большую роль в этой важной клинической проблеме играют ферменты группы бета-лактамаз. В обзоре освещены последние достижения в области исследования ингибиторов бета-лактамаз, особенно с новым механизмом действия в отношении широкого круга ферментов. Рассмотрены проводимые клинические испытания, отдельные соединения, находящиеся на стадии предклинической разработки, а также подвергнутые ревизии предшествующие терапевтические подходы. Особенное внимание уделено активности соединений первоочередной линии разработок, включая диазабициклооктановые ингибиторы (авибактам и МК-7655) и боронат RPX7009. Авибактам стал первым за последние два десятилетия новым ингибитором бета-лактамазы с оригинальным обратимым механизмом действия, доведённым до клинических исследований. Обсуждается важность подбора подходящего беталактаманного антибиотика-партнёра и режима дозирования для многообещающих препаратов. В эпоху наступления мультирезистентных патогенных грамотрицательных бактерий «ренессанс» ингибиторов бета-лактамаз вселяет надежду.

* Research Service, Louis Stokes Cleveland Department of Veterans Affairs, Cleveland, Ohio, USA.

IN VITRO И IN VIVO АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО АМИНОМЕТИЛЦИКЛИНОВОГО АНТИБИОТИКА ОМАДАЦИКЛИНА.

IN VITRO AND IN VIVO ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF OMADACYCLINE, A NOVEL AMINOMETHYLCYCLINE / A. B. MACONE, B. K. CARUSO, R. G. LEAHY, J. DONATELLI, S. WEIR, M. P. DRAPER, S. K. TANAKA*, S. B. LEVY // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY FEBRUARY 2014; 58: 2: 1127—1135.

Омадациклин — первый разработанный для в/в и перорального введения 9-аминометилциклин-овый антибиотик для применения против многих инфекционных заболеваний, включая острые бактериальные инфекции кожи и мягких тканей, внебольничную пневмонию и инфекции мочевыводящего тракта. Определена сравнительная *in vitro* активность омадациклина в отношении большого набора клинических штаммов грамположительных бактерий, в т. ч. метициллиноустойчивого *Staphylococcus aureus* (MRSA), ванкомициноустойчивого *Enterococcus* (VRE), Lancefield групп А и В бета-гемолитических стрептококков, пенициллиноустойчивого *Streptococcus pneumoniae*

(PRSP) и *Haemophilus influenzae*. Значения МПК₉₀ омадациклина для MRSA, VRE и бета-гемолитических стрептококков были равны соответственно (мкг/мл) 1,0, 0,25 и 0,5, а для PRSP и *H. influenzae* — 0,25 и 2,0. Омадациклин был также активен в отношении микроорганизмов, обладающих двумя основными механизмами устойчивости: защитой рибосом и активным выбросом тетрациклина. *In vivo* активность омадациклина была продемонстрирована на модели внутрибрюшной инфекции у мышей. Разовая в/в доза была эффективна против *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, и *Staphylococcus aureus*, включая *tet*(M) и *tet*(K) эффлюкс-несущие штаммы, а также MRSA штаммов. 50% эффективные дозы (ED₅₀) для *Streptococcus pneumoniae* составляли 0,45–3,39 мг/кг, для *Staphylococcus aureus* 0,30–1,74 мг/кг, для *Escherichia coli* 2,02 мг/кг. Результаты показали высокую *in vivo* эффективность и активность в отношении в т. ч. штаммов с обычными детерминантами устойчивости. Таким образом, омадациклин был активен *in vitro* в отношении широкого круга грамположительных и отдельных грамотрицательных патогенов, в том числе несущих детерминанты устойчивости, и эта активность выражалась в высокой эффективности *in vivo*.

* Paratek Pharmaceuticals, Inc., Boston, Massachusetts, USA.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ НОВОГО АМИНОМЕТИЛЦИКЛИНОВОГО АНТИБИОТИКА ОМАДАЦИКЛИНА.

**MECHANISM OF ACTION OF THE NOVEL
AMINOMETHYLCYCLINE ANTIBIOTIC OMADACYCLINE /**
M. P. DRAPER, S. WEIR*, A. MACONE, J. DONATELLI,
C. A. TRIEBER, S. K. TANAKA*, STUART B. LEVY // **ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY MARCH**
2014; 58: 3: 1279–128.

Омадациклин — первый из класса аминометилциклиновых антибиотиков с высокой активностью в отношении важных возбудителей инфекций кожи и пневмонии, включая внебольничный метициллиноустойчивый *Staphylococcus aureus* (MRSA), β -гемолитические стрептококки, пенициллиноустойчивый *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* и *Legionella*. Механизм действия омадациклина изучали несколькими методами. Функциональный анализ показал, что омадациклин активен в отношении штаммов с двумя основными формами устойчивости к тетрациклину: активный выброс и защита рибосом. Опыты по макромолекулярному синтезу подтвердили, что первичное действие омадациклина заключа-

ется в подавлении синтеза белка с большей эффективностью, чем тетрациклин. Биофизические исследования с выделенными рибосомами показали, что сайт связывания омадациклина тот же, что и тетрациклина. В отличие от тетрациклина, омадациклин активен *in vitro* в присутствии защитного рибосомального белка Tet(O).

* Paratek Pharmaceuticals, Inc., Boston, Massachusetts, USA.

IN VITRO АКТИВНОСТЬ КАДАЗОЛИДА В ОТНОШЕНИИ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ШТАММОВ *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* И НА IN VITRO МОДЕЛЬНОЙ КИШЕЧНОЙ ИНФЕКЦИИ *C. DIFFICILE*.

**IN VITRO ACTIVITY OF CADAZOLID AGAINST
CLINICALLY RELEVANT *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*
ISOLATES AND IN AN IN VITRO GUT MODEL OF
C. DIFFICILE INFECTION / C. H. CHILTON,
G. S. CROWTHER, S. D. BAINES, S. L. TODHUNTER,
J. FREEMAN, H. H. LOCHER, A. ATHANASIOU,
M. H. WILCOX* // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL
CHEMOTHERAPY 2014; 69: 3: 697–705.**

Исследовали *in vitro* активность кадазолида в отношении 100 штаммов *Clostridium difficile* и его эффективность на модели инфекции *C. difficile* (CDI), имитирующей кишечник человека. Значения МПК кадазолида, метронидазола, ванкомицина, моксифлоксацина и линезолида определяли разведениями в агаре у 100 штаммов *C. difficile*, включая 30 эпидемических штаммов (риботипы 027, 106 и 001) с пониженной чувствительностью к метронидазолу, 2 линезолидоустойчивых штамма и 2 моксифлоксациноустойчивых штамма. Эффективность оценивали в двух режимах дозирования (250 против 750 мг/л дважды в сутки на протяжении 7 дней), имитирующих лечение CDI. На протяжении исследования отслеживали популяции микрофлоры, общее количество жизнеспособных клеток и спор *C. difficile*, титры цитотоксина, возможное развитие устойчивости и концентрацию антибиотика. Кадазолид был активен в отношении всех, включая устойчивые к линезолиду и моксифлоксацину, штаммов *C. difficile* (МПК₉₀ 0,125, в пределах 0,03–0,25 мг/л). Средние геометрические значения МПК кадазолида были в 152, 16, 9 и 7 раз ниже, чем соответствующие значения МПК моксифлоксацина, линезолида, метронидазола и ванкомицина. При обоих режимах дозирования происходило быстрое снижение числа жизнеспособных клеток и цитотоксина без рецидивов. В течение 14 дней после дозирования уровень кадазолида оставался в 50–100 раз выше МПК. Подавление кадазолидом микрофлоры

ры кишечника было ограниченным, и не отражалось на количестве бифидобактерий, бактерий группы *Bacteroides fragilis* и *Lactobacillus* spp. Не было отмечено селекции штаммов, устойчивых к кадазолиду, хинолонам и линезолиду. Активность кадазолида была выше активности других протестированных антибиотиков в отношении 100 штаммов *C.difficile*. Кадазолид был эффективен на модельной кишечной инфекции CDI, ограниченно воздействуя на микрофлору кишечника, при отсутствии рецидивов и появления резистентности во временных рамках эксперимента.

* Department of Microbiology, Leeds Teaching Hospitals NHS Trust, The General Infirmary, Old Medical School, Leeds, UK.

КАДАЗОЛИД, НОВЫЙ АНТИБИОТИК С ВЫСОКОЙ АКТИВНОСТЬЮ В ОТНОШЕНИИ *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*: БЕЗОПАСНОСТЬ, ПЕРЕНОСИМОСТЬ И ФАРМАКОКИНЕТИКА РАЗОВОЙ И МНОЖЕСТВЕННЫХ ДОЗ У ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ.

CADAZOLID, A NOVEL ANTIBIOTIC WITH POTENT ACTIVITY AGAINST *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*: SAFETY, TOLERABILITY AND PHARMACOKINETICS IN HEALTHY SUBJECTS FOLLOWING SINGLE AND MULTIPLE ORAL DOSES / D. BALDONI*, M. GUTIERREZ, W. TIMMER, J. DINGEMANSE // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014; 69: 3: 706–714.

Проблемы современного лечения *Clostridium difficile*-ассоциированной диареи (CDAD) включают высокую потребность в новых подходах лечения CDAD. Кадазолид представляет новый антибиотик, разработанный для лечения CDAD. Задачей исследования было оценить переносимость и фармакокинетику последовательных однократных (AC-061-101) и многократных (AC-061-102) возрастающих доз. Однократные и многократные (дважды в сутки в течение 10 дней) пероральные дозы кадазолида от 30 до 3000 мг и плацебо испытывали на 64 здоровых добровольцах-мужчинах. Безопасность проверяли через регулярные интервалы. Концентрацию кадазолида определяли в пробах крови, мочи и фекалий. Кадазолид в дозах до 3000 мг дважды в сутки хорошо переносился; наиболее общим побочным явлением была головная боль, но связи между величиной дозы, продолжительностью лечения и побочным явлением не наблюдалось. Концентрация кадазолида в плазме была низкой: не более 3,3 нг/мл при однократных дозах и не более 6,9 нг/мл после 10-дневного введения многократных доз. Приём пищи повышал среднее значение C_{max} с 0,73 до 1,87

нг/мл и среднее значение AUC_{0-t} с 3,13 до 15,69 нг·час/мл после однократной 300 мг дозы. Повышение системной экспозиции было меньше пропорционального повышения доз. Среднее кумулятивное содержание в фекалиях составляло 81,0–93,5%. Содержание неизменённого антибиотика в моче было менее 0,015%. Итак, кадазолид хорошо переносился, его системная экспозиция была низкой. Большая часть соединения обнаруживалась в неизменённом виде в фекалиях, что обеспечивало его высокую концентрацию в нижнем отделе кишечника.

* Department of Clinical Pharmacology, Actelion Pharmaceuticals Ltd, Allschwil, Switzerland.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ И РАЗВИТИЯ УСТОЙЧИВОСТИ К КАДАЗОЛИДУ, НОВОМУ АНТИБИОТИКУ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИЙ *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*.

INVESTIGATIONS OF THE MODE OF ACTION AND RESISTANCE DEVELOPMENT OF CADAZOLID, A NEW ANTIBIOTIC FOR TREATMENT OF *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* INFECTIONS / H. H. LOCHER*, P. CASPERS, T. BRUYÈRE, S. SCHROEDER, P. PFAFF, A. KNEZEVIC, W. KECK, D. RITZ // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY FEBRUARY 2014; 58: 2: 901–908.

Кадазолид — новый, проходящий клинические испытания оксазолидиноновый антибиотик для лечения диареи, ассоциированной с *Clostridium difficile*. Приведены результаты исследования механизма действия и склонности штаммов *C. difficile* к развитию спонтанной устойчивости. Эксперименты с мечеными макромолекулами показали, что кадазолид действует как сильный ингибитор синтеза белка, подавление синтеза ДНК наблюдалось при существенно более высоких концентрациях. Сильное подавление синтеза белка было отмечено у штаммов, устойчивых к линезолиду, что согласуется с низкими значениями МПК для таких штаммов. Подавление белкового синтеза было подтверждено методами транскрипции/трансляции с использованием экстрактов из различных штаммов *C. difficile*, в т.ч. штаммов, устойчивых к линезолиду, тогда как подавляющее действие на топоизомеразу ДНК было слабым или не обнаруживалось в условиях эксперимента. Частота спонтанной устойчивости к кадазолиду была низкой у всех протестированных штаммов (в общем $<10^{-10}$ при 2–4 МПК), и значение МПК не повышалось значительно при множественных (до 13) пассажах. Более того, не наблюдалось перекрёстной устойчивости, кадазолид сохранял высокую активность в отношении штаммов, устойчивых или не чувствитель-

ных к линезолиду, фторхинолонам и новому антибиотику фидаксимицину. Итак, представленные данные означают, что кадазолид действует в основном как ингибитор синтеза белка, слабое подавление синтеза ДНК является потенциальным вторичным механизмом действия. Возможность развития спонтанной устойчивости к кадазолиду низкая.

* Actelion Pharmaceuticals Ltd., Allschwil, Switzerland.

КИБДЕЛОМИЦИН – СИЛЬНОЕ И ИЗБИРАТЕЛЬНО ДЕЙСТВУЮЩЕЕ ВЕЩЕСТВО В ОТНОШЕНИИ ТОКСИКОГЕННОЙ *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*.

KIBDELOMYCIN IS A POTENT AND SELECTIVE AGENT AGAINST TOXIGENIC *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* / L. MIESEL, D. W. HECHT, J. R. OSMOLSKI, D. GERDING, A. FLATTERY, F. LI, J. LAN, P. LIPARI, J. D. POLISHOOK, L. LIANG, J. LIU, D. B. OLSEN, S. B. SINGH* // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY APRIL 2014; 58: 4: 2387–2392.

Clostridium difficile вызывает *C. difficile* – ассоциированную диарею (CDAD), представляющую большой фактор риска в популяции пожилых людей. Оценивали активность кибделомицина, природного соединения, подавляющего ферменты группы топоизомеразы II, в отношении *C. difficile* и анаэробных микроорганизмов желудочно-кишечного тракта: 168 токсикогенных штаммов *C. difficile*, полученных из больниц США, и 598 штаммов анаэробных грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов из больниц округа Чикаго. Кибделомицин показал высокую активность в отношении токсикогенных штаммов *C. difficile* (МПК₉₀ 0,25 мкг/мл) и большинства грамположительных аэробов, но слабую активность в отношении *Bacteroides* spp. (МПК₅₀ >32 мкг/мл; n=270). Высокая анти-*C. difficile* активность наблюдалась на модели *C. difficile*-колита у хомячков. Доза 1,6 мг/кг (перорально дважды в сутки) защищала от летальной инфекции и снижала на 2-log число клеток *C. difficile* в слепой кишке, а доза 6,25 мг/кг (перорально дважды в сутки) полностью элиминировала *C. difficile* из содержимого слепой кишки. При разовой дозе 6,25 мг/кг в содержимом слепой кишки концентрация кибделомицина в 8 раз превышала МПК и составляла >2 мМ. Полученные результаты являются основанием для дальнейшего изучения кибделомицина в целях разработки анти-*C. difficile* препарата.

* Merck Research Laboratories, Kenilworth, New Jersey, USA.

ЭВОЛЮЦИЯ МЕТИЦИЛЛИНОУСТОЙЧИВОГО *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* В НАПРАВЛЕНИИ УВЕЛИЧЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ.

EVOLUTION OF METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* TOWARDS INCREASING RESISTANCE / B. STROMMINGER*, M. D. BARTELS, K. KURT, F. LAYER, S. M. RONDE, K. BOYE, H. WESTH, W. WITTE, H. DE LENCASTRE, U. NÜBEL // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014; 69: 3: 616–622.

Задачей исследования было проследить эволюцию клонального комплекса (CC)8 *Staphylococcus aureus*, охватывающего несколько глобальных эпидемических клонов, включая внутрибольничный метициллиноустойчивый *S. aureus* (MRSA) и широко распространённый внебольничный MRSA клон USA300. Была реконструирована филогения *S. aureus* CC8 на основе обнаружения мутаций в 112 конститутивных генных локусах каждого из 174 штаммов, выделенных на 5 континентах в период с 1957 по 2008 гг. Было исследовано распределение признаков устойчивости к антимикробным препаратам и разнообразие мобильных генетических элементов в связи с филогенией штаммов. Проведённый анализ выявил существование внутри CC8 девяти филогенетических ветвей. Было установлено, по крайней мере, 8 независимых случаев приобретения CC8 устойчивости к метициллину и датировано происхождение метициллиноустойчивого прародителя пресловутого клона USA300 серединой 1970-х гг. Среди собранной коллекции *S. aureus* 88% штаммов содержат последовательности плазмидного *rep* гена и до 5 различных *rep* генов в каждом отдельном штамме, всего 8 *rep* семейств. Картирование состава плазмид с позиций филогении штаммов показало стабильное носительство свыше десятков одних плазмид и более подвижную природу других. Наблюдалась тенденция увеличения резистентности в процессе эволюции некоторых предков по прямой линии, включая USA300. Была предложена модель эволюции *S. aureus* CC8, включающая разделение, по крайней мере, на 9 филогенетических предков и последующую серию приобретений или утрат мобильных генетических элементов, несущих разнообразные признаки вирулентности и устойчивости к антимикробным препаратам. Основным интерес в эволюции MRSA USA300 представляет развитие устойчивости к антибиотикам других классов.

* National Reference Centre for Staphylococci and Enterococci, Robert Koch Institute, Wernigerode Branch, Wernigerode, Germany.

**РОЛЬ ГЕНА *MECA* В УСТОЙЧИВОСТИ
К ОКСАЦИЛЛИНУ КЛИНИЧЕСКОГО ШТАММА
STAPHYLOCOCCUS AUREUS С *PVL*-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ
ST59 ГЕНОФОНОМ.**

**ROLE OF THE *MECA* GENE IN OXACILLIN RESISTANCE
IN A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* CLINICAL STRAIN
WITH A *PVL*-POSITIVE ST59 GENETIC BACKGROUND /
F.-J. CHEN, C.-H. WANG, C.-Y. CHEN, Y.-C. HSU,
K.-T. WANG* // *ANTIMICROBIAL AGENTS
CHEMOTHERAPY* FEBRUARY 2014; 58: 2: 1047—1054.**

Большинство распространённых на Тайване штаммов внебольничного метициллиноустойчивого *Staphylococcus aureus* (С-MRSA) сиквенс-типа 59 (ST-59) содержит стафилококковую хромосомальную кассету *mec* (*SCCmec*) типа V и реже типа IV. Чувствительность этих штаммов к оксациллину широко варьировала по невыясненной причине. Сравнение последовательностей *mecA* генов у клинических штаммов различных *SCCmec* типов выявило наличие различных мутаций в *mecA* промоторе. Анализ активности *mecA* промотора с помощью слияния репортёрных генов показало, что единственное замещение основания в промоторе оказывает сильное влияние на транскрипцию *mecA*. Оценивали экспрессию вариантов *mecA* с различными последовательностями промотора в метициллиночувствительном (MSSA) штамме C195 (ST 59). Образование ПСБ2а у родительских штаммов и штаммов, содержащих мутантные *mecA* гены, тесно коррелировало с уровнями транскрипции *mecA*. Количество ПСБ2а также тесно коррелировало с уровнем устойчивости к оксациллину у вариантов C195. Полученные данные предполагают важную роль мутаций в *mecA* промоторе в определении уровня устойчивости к оксациллину. Было установлено, что мутация G-25A (25 оснований в 3'-5' направлении *mecA* трансляционного стартового сайта) ассоциируется с высокими значениями МПК (256 мкг/мл) оксациллина, G7T — умеренными значениями МПК (32—64 мкг/мл), штаммы с мутацией C-33T — низкими значениями МПК (4—8 мкг/мл), мутация A-38G аннулирует влияние мутации C-33T, в двойном мутанте A-38G / C-33T уровень устойчивости к оксациллину восстанавливается. Результаты исследований служат объяснением, почему С-MRSA штаммы, выделенные на Тайване, содержащие *SCCmec* IV или V типов, так варьировали по значениям МПК оксациллина.

* National Institute of Infectious Diseases and Vaccinology, National Health Research Institutes, Zhunan, Taiwan.

**БЕТА-ЛАКТАМАЗЫ КЛАССА D: ВСЕ ЛИ
ОНИ ЯВЛЯЮТСЯ КАРБАПЕНЕМАЗАМИ?**

**CLASS D B-LACTAMASES: ARE THEY ALL
CARBAPENEMASES? /N. T. ANTUNES,
T. L. LAMOUREAUX, M. TOTH, N. K. STEWART,
H. FRASE, S. B. VAKULENKO* // *ANTIMICROBIAL
AGENTS CHEMOTHERAPY* APRIL 2014;
58: 4: 2119—2125.**

Бета-лактамазы класса D, гидролизующие карбапенемы, являются клинически важными ферментами из-за способности определять устойчивость к карбапенемам, «последней линии обороны» при лечении тяжёлых жизнеугрожающих инфекций. Подавляющее большинство этих ферментов обнаружено в *Acinetobacter spp.*, главным образом в *Acinetobacter baumannii*. Ферменты OXA-2 и OXA-10 преимущественно встречаются в *Pseudomonas aeruginosa* и в настоящее время классифицируются как бета-лактамазы класса D узкого спектра действия. Было продемонстрировано, что когда OXA-2 и OXA-10 экспрессируются штаммом JM83 *Escherichia coli*, тип устойчивости характеризуется узким спектром антибиотиков, но при экспрессии *A. baumannii* ATCC 17978 они ведут себя как бета-лактамазы расширенного спектра действия и обеспечивают устойчивость к карбапенемам. Кинетические исследования OXA-2 и OXA-10 показали, что их каталитическая эффективность в отношении этих антибиотиков такого же порядка, как карбапенемаз класса D. Полученные данные находятся в противоречии с классификацией ферментов OXA-2 и OXA-10 как бета-лактамаз класса D с узким спектром действия, и можно предположить, что и другие ферменты класса D, не считающиеся карбапенемазами, могут фактически являться бета-лактамазами класса D, гидролизующими карбапенемы.

* Department of Chemistry and Biochemistry, University of Notre Dame, Notre Dame, Indiana, USA.

**ИНФЕКЦИИ КРОВотоКА, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ
ШТАММАМИ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*,
ПРОДУЦИРУЮЩИМИ КАРБАПЕНЕМАЗУ:
СНИЖЕНИЕ СМЕРТНОСТИ ЗА СЧЁТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
КОМБИНИРОВАННЫХ СХЕМ ТЕРАПИИ
И РОЛЬ КАРБАПЕНЕМОВ.**

**CARBAPENEMASE-PRODUCING *KLEBSIELLA
PNEUMONIAE* BLOODSTREAM INFECTIONS: LOWERING
MORTALITY BY ANTIBIOTIC COMBINATION SCHEMES
AND THE ROLE OF CARBAPENEMS / G. L. DAIKOS*,
S. TSAOUSI, L. S. TZOUVELEKIS, I. ANYFANTIS,
M. PSICHOGIOU, A. ARGYROPOULOU, I. STEFANOY,
V. SYPSA, V. MIRIAGOU, M. NEPKA, S. GEORGIADOU,
A. MARKOGIANNAKIS, D. GOUKOS, A. SKOUTELIS //**

ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY APRIL 2014; 58: 4: 2322–2328.

Штаммы *Klebsiella pneumoniae*, образующие карбапенемазу (СР-Кр), относятся к очень важным нозокомиальным патогенам. В период с 2009 г. по 2010 г. в двух больницах, расположенных в регионе с широким распространением инфекции (Афины, Греция), было выполнено наблюдательное исследование, целями которого были: 1) оценить исход лечения больных с СР-Кр инфекцией кровотока (ИК), 2) определить прогностические факторы смертности, 3) оценить различные схемы антибиотикотерапии. Всего было идентифицировано 205 больных с ИК, обусловленной СР-Кр, из них 163 (79,5%) были инфицированы продуцентами КРС и VIM и 42 — продуцентами VIM. Комбинированную терапию (2 или более лечебных препаратов) получали 103 больных, 72 больных получали монотерапию, 12 получали плацебо (без лекарственных препаратов), остальные 18 скончались через 48 час. после острого приступа бактериемии. Общий показатель 28-дневной смертности составил 40%. Значительно выше показатель смертности был в группе больных, получавших монотерапию по сравнению с группой леченных комбинацией препаратов (44,4% против 27,2%; $p=0,018$). Согласно модели соотношения рисков по Сох'у независимыми прогностическими факторами летального исхода были: основное фатальное заболевание (отношение рисков [HR], 3,25, 95% ДИ, 1,51–7,03; $p=0,003$), наличие сопутствующих фатальных заболеваний (HR, 4,20; 95% CI, 2,19 to 8,08; $p<0,001$) и септический шок (HR, 2,15; 95% CI, 1,16 to 3,96; $p=0,015$). Комбинированная терапия ассоциировалась с большей выживаемостью по сравнению с монотерапией (HR летального исхода при монотерапии против комбинированной 2,08; 95% CI, 1,23–3,51; $p=0,006$), что зависело, главным образом, от эффективности режимов лечения, включающих карбапенемы.

* First Department of Propaedeutic Medicine, University of Athens, Athens, Greece.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО ФОРМАТА
ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ЦЕФЕПИМА
И БЕТАЛАКТАМОВ+ИНГИБИТОРЫ БЕТА-ЛАКТАМАЗ
ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ
ENTEROBACTERIACEAE, ПРОДУЦИРУЮЩИМИ
БЕТА-ЛАКТАМАЗЫ РАСШИРЕННОГО СПЕКТРА.
ОБЗОР.**

**DETERMINING A CLINICAL FRAMEWORK FOR USE
OF CEFEPIME AND B-LACTAM/B-LACTAMASE
INHIBITORS IN THE TREATMENT OF INFECTIONS**

**CAUSED BY EXTENDED-SPECTRUM-B-
LACTAMASE-PRODUCING / H. M. NGUYEN*,
K. L. SHIER, C. J. GRABER // JOURNAL OF
ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014;
69: 4: 871–880.**

В случае инфекций, вызванных бактериями (в основном *Escherichia coli* и *Klebsiella species*), образующими бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), традиционно врачи не назначают цефепим (цефалоспорин 4-го поколения с большей устойчивостью к бета-лактамазам) или комбинацию бета-лактама с ингибитором бета-лактамаз (БЛ+ИБЛз). Многие микробиологические лаборатории всегда рассматривали продуценты БЛРС как устойчивые ко всем цефалоспорином, несмотря на значения МПК. Рекомендации исключить идентификацию БЛРС относятся к 2009 г. (EUCAST) и затем 2010 г. (CLSI). Как следствие многие БЛРС-продуцирующие микроорганизмы, которые ранее считались устойчивыми во всем цефалоспорином, могут быть переклассифицированы в чувствительные к некоторым из них (в частности, цефепиму) в зависимости от значения их МПК. Из-за ограниченного выбора терапевтических средств в отношении БЛРС-продуцирующих бактерий возрос интерес к применению цефепима и комбинаций БЛ+ИБЛз. В обзоре исследованы клинические исходы лечения инфекций, обусловленных Enterobacteriaceae-продуцентами БЛРС, фармакокинетика/фармакодинамика цефепима и БЛ+ИБЛз с тем, чтобы очертить те клинические рамки, в которых врачи наиболее успешно могли бы применять средства, альтернативные комбинированным с карбапенемом препаратам, при лечении инфекций, вызванных БЛРС-продуцирующими Enterobacteriaceae. Авторы заключили, что цефепим в стандартных дозах представляется приемлемым препаратом выбора при радикальной терапии инвазивных инфекций, обусловленных БЛРС-продуцирующими *E. coli* и *Klebsiella species*, если значения МПК для этих микроорганизмов ≤ 2 мг/л (CLSI) или ≤ 1 мг/л (EUCAST), хотя при МПК в пределах 4–8 мг/л могут рассматриваться и более высокие дозы. При МПК ≤ 16 мг/л в качестве приемлемого препарата выбора может рассматриваться пиперациллин/тазобактам.

* Northwest Permanente, Portland, OR, USA.

**ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ВОЗНИКНОВЕНИЯ
И ЭВОЛЮЦИИ МУЛЬТИЛЕКАРСТВЕННОЙ
УСТОЙЧИВОСТИ, ВКЛЮЧАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ
К КАРБАПЕНЕМУ И КОЛИСТИНУ, ВО ВРЕМЯ
ВСПЫШКИ ИНФЕКЦИИ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*.**

**GENOMIC ANALYSIS OF THE EMERGENCE AND
EVOLUTION OF MULTIDRUG RESISTANCE DURING A**

KLEBSIELLA PNEUMONIAE OUTBREAK INCLUDING CARBAPENEM AND COLISTIN RESISTANCE / E. LÓPEZ-CAMACHO, R. GÓMEZ-GIL, R. TOBES, M. MANRIQUE, M. LORENZO, B. GALVÁN, E. SALVARELLI, Y. MOATASSIM, I. J. SALANUEVA, E. PAREJA, F. M. CODOÑER, M. ALVAREZ-TEJADO, M. PILAR GARCILLÁN-BARCIA, F. DE LA CRUZ, J. MINGORANCE* // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014; 69: 3: 632—636.

Задачей исследования было охарактеризовать на уровне генома эволюцию множественной устойчивости во время вспышки инфекции *Klebsiella pneumoniae* в ожоговом отделении интенсивной терапии. Вспышка была вызвана штаммом ДНА-1, продуцирующим бета-лактамазу, который последовательно приобрёл устойчивость к карбапенему и фосфомицину, а в одном случае — колистину. Был выполнен сравнительный анализ последовательностей генома двух штаммов и ранее секвенированного генома. Гипермутабильность изучали определением частоты мутаций штаммов и сравнением с контрольными штаммами коллекции. Сравнение последовательностей выявило 4 варианта с замещением одного нуклеотида и инсерции в двух транспозонах. Анализ вариантов всей коллекции указал на связь устойчивости к карбапенемам и фосфомицину с нонсенс-мутацией в пориновом гене *ompK36*, а устойчивость к колистину — с IS1 инсерцией в *mgrB* гене. Плазмида, несущая *bla*_{ДНА-1} ген, была нестабильной при отсутствии антибиотиков, и анализ штаммов, потерявших плазмиду, показал, что пориновая мутация одна недостаточна для развития устойчивости к карбапенемам. Частота мутаций во всех проанализированных штаммах была сходной. Для устойчивости к карбапенемам были необходимы образование ДНА-1 бета-лактамазы и сниженная проницаемость, а устойчивость к фосфомицину зависела только от проницаемости. Устойчивость к колистину может быть связана с нарушением регуляции *phoPQ* системы. Гипермутация не связана с селекцией пориновых мутантов. Плазмидная нестабильность может зависеть от большого числа мобильных элементов, и, возможно, основную роль в возникновении и эволюции данной вспышки сыграло селективное давление антибиотиков.

* Servicio de Microbiología, Hospital Universitario La Paz, IdiPaz, Paseo de La Castellana 261, 28046 Madrid, Spain.

ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЁНКИ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ГЕНТАМИЦИНУ И КОЛИСТИНУ ЭКСТРЕМАЛЬНО УСТОЙЧИВОГО, КРС- ОБРАЗУЮЩЕГО ШТАММА *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*.

BIOFILM FORMATION AND SUSCEPTIBILITY TO GENTAMICIN AND COLISTIN OF EXTREMELY DRUG-RESISTANT KPC-PRODUCING *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*/ L. NAPARSTEK, Y. CARMELI, S. NAVON-VENEZIA, E. BANIN*// JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014; 69: 4: 1027—1034.

Образующая КРС *Klebsiella pneumoniae* (КРС-Кр) является опасным глобально распространённым патогеном, но её способность образовывать биопленки ещё недостаточно изучена. Описано образование биоплёнки и определена чувствительность клеток биоплёнки к гентамицину и колистину. У 46 клинических КРС-Кр штаммов было выполнено сиквенс-типирование, 28 из них относились к ST 258, 18 — к другим ST. Биомассу биоплёнки определяли стандартным методом измерения оптической плотности OD₅₉₀ и визуальным конфокальным микроскопированием. Оценивали действие антибиотика на образование биоплёнки, чувствительность определяли по минимальной концентрации, элиминирующей клетки биоплёнки (МКЭБ). КРС-Кр штаммы образовывали биоплёнку в пределах 0,02—0,3 OD₅₉₀, причём ST258 штаммы в меньшей степени, чем штаммы других ST (медиана OD₅₉₀ 0,07 против 0,15, соответственно, $p < 0,05$). Биологический объём биоплёнки находился в пределах от 354 ± 323 до $27461,4 \pm 11886,7$ мкм³. Планктонные клетки ST 258 штаммов были менее устойчивы к гентамицину, чем штаммов других ST (уровни устойчивости: 14% против 66%, $p < 0,05$). Устойчивые к гентамицину штаммы (МПК ≥ 32 мкг/л) демонстрировали исключительную устойчивость клеток биоплёнки (до 234 -кратного увеличения), тогда как чувствительные к гентамицину штаммы (МПК < 32 мкг/л) сохраняли свою чувствительность. Возросшая устойчивость к гентамицину в состоянии биоплёнки не была обязательным признаком штаммов со сверхэкспрессией *aac(3)-II* гена устойчивости к аминогликозидам. Устойчивость клеток биоплёнки к колистину также увеличивалась, но была менее выраженной ($p < 0,05$). Биомасса биоплёнки не влияла на значение МКЭБ гентамицина и колистина, независимо от генотипа. Штаммы КРС-Кр, особенно ST258, не образовывали массивных биоплёнок, тем не менее эндемическая чувствительность к гентамицину клеток биоплёнки говорит о возможном применении гентамицина в условиях клиники.

* The Mina and Everard Goodman Faculty of Life Sciences, Institute for Nanotechnology and Advanced Materials, Bar-Ilan University, Ramat Gan, Israel.

**ПОДАВЛЕНИЕ МУЛЬТИЛЕКАРСТВЕННОГО ВЫБРОСА
КАК СТРАТЕГИЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ОБРАЗОВАНИЯ
БИОПЛЁНКИ.**

**INHIBITION OF MULTIDRUG EFFLUX AS A STRATEGY
TO PREVENT BIOFILM FORMATION /S. BAUGH,
C. R. PHILLIPS, A. S. EKANAYAKA, L. J. V. PIDDOCK,
M. A. WEBBER* // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL
CHEMOTHERAPY 2014; 69: 3: 673—681.**

Недавно было показано, что результатом инактивации любой из систем активного мультитекарственного выброса у *Salmonella* является утрата способности образовывать полноценную биоплёнку. Был определён механизм, связывающий мультитекарственный выброс и образование биоплёнки, и возможности использования подавления выброса в качестве «противоплёнковой» стратегии. Исследовали способность мутантов *Salmonella enterica* серовар Typhimurium, недостаточных по компонентам AcrAB-TolC системы, образовывать скопления клеток, продуцировать компоненты матрицы биоплёнки, формировать биоплёнку; выделять важные для образования биоплёнки субстраты с помощью помпового выброса. Также измеряли экспрессию генов, регулирующих мультитекарственный выброс и образование компонентов матрицы биоплёнки. Оценивали способность ингибиторов выброса: карбонил цианида *m*-хлорфенилгидразона, хлорпромазина и фенил-аргинин- β -нафтиламида — предотвращать обра-

зование биоплёнки клетками *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* в статических и проточных условиях. У мутантов *Salmonella* Typhimurium недостаточность по TolC или AcrB, но не AcrA, соответствовала их способности образовывать биоплёнки. Этот дефект не был связан с изменениями гидрофобности клетки, способностью к агрегации или выделением специфических факторов биоплёнки. Нарушения в развитии биоплёнки происходили из транскрипционной репрессии генов биосинтеза карлина (главный белковый компонент внеклеточной матрицы у Enterobacteriaceae), результатом чего было подавление образования карлина. Все три ингибитора выброса значительно снижали образование биоплёнки и в статических, и проточных условиях, хотя для каждого вида микроорганизмов оптимальные концентрации ингибитора различались. Итак, выполненное исследование показывает, что как генетическая инактивация, так и химическое подавление выброса приводят к транскрипционной репрессии компонентов матрицы биоплёнки и нарушению формирования биоплёнки, поэтому подавление выброса представляется многообещающей стратегией борьбы с биоплёнками.

* School of Immunity and Infection, Institute for Microbiology and Infection, University of Birmingham, Edgbaston, Birmingham B15 2TT, UK.

Подготовлено Бондаревой Н. С.

К 90-летию со дня рождения академика С. М. Навашина

In Commemoration of the 90th Anniversary of S. M. Navashin



24 мая этого года исполнилось 90 лет со дня рождения академика РАМН Сергея Михайловича Навашина, с чьим именем неразрывно связано становление и развитие отечественной науки об антибиотиках и промышленности антибиотиков.

Генеральный директор Государственного научного центра по антибиотикам (ГНЦА), заведующий кафедрой микробиологии Российской медицинской академии последипломного образования, главный редактор журнала «Антибиотики и химиотерапия», С. М. Навашин имел высокий научный авторитет в России и за рубежом.

Начало жизненного пути С. М. Навашина в медицинскую науку было непростым и тернистым, как и у большинства его сверстников, родившихся в 1924 году и окончивших школу в июне 1941 года. Мечты о взрослой жизни были внезапно прерваны войной, которая распорядилась жизнью молодежи по-разному, отняв у многих из них не только мечты, но и жизнь. Последовала эвакуация в Среднюю Азию, поступление в Алма-Атинский мединститут, призыв в армию и поступление слушателем в Военно-медицинскую академию в Ленинграде, которая в те годы была уникальным собранием выдающихся деятелей науки во главе с её начальником академиком Л. А. Орбели. Затем — демобилизация из-за обострившегося в послеблокадном Ленинграде туберкулёза лёгких, переезд в Москву и продолжение обучения во Втором московском медицинском институте, который он успешно окончил в 1951 году.

Начало трудовой деятельности С. М. Навашина — в качестве корреспондента отдела науки газеты «Медицинский работник» (теперь — «Медицинская газета»). Эта работа позволила Сергею Михайловичу оказаться в гуще самых разнообразных проблем, стоявших перед медициной и биологией, брать интервью у знаменитых учёных, присутствовать на сессиях АМН СССР, на научных симпозиумах по вопросам медицины, что и сформировало его стремление заниматься медицинской наукой.

После ухода из газеты Сергей Михайлович работал сначала в Институте эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи, затем — в Институте по изысканию новых антибиотиков, что окончательно определило его целенаправленный интерес к медицинской микробиологии и проблемам химиотерапии инфекционных заболеваний.

В 1956 году С. М. Навашин пришёл на кафедру микробиологии Центрального института усовершенствования врачей, заведовала которой З. В. Ермольева, один из авторов отечественного пенициллина, спасшего немало жизней и здоровье советских солдат на фронтах Великой отечественной войны. Из разнообразной кафедральной тематики С. М. Навашина особенно интересовали исследования в области антибактериальной химиотерапии. Он стал самым талантливым учеником З. В. Ермольевой, соратником и продолжателем её дела, возглавив впоследствии её кафедру и сохранив созданную академиком РАМН З. В. Ермольевой школу медицинских микробиологов и экспериментальных химиотерапевтов. В 1958 году он успешно защитил кандидатскую диссертацию на тему: «Изучение действия тетрациклинов на различных экспериментальных моделях дизентерии».

В 1959 году, по рекомендации З. В. Ермольевой, Сергей Михайлович был направлен на стажировку в Англию, где под руководством классика науки об антибиотиках профессора Э. Чейна, проводившего работы по получению 6-аминопенициллановой кислоты и производству первых полусинтетических пенициллинов, С. М. Навашин стал свидетелем работ по получению метициллина, оксациллина и ампициллина в промышленном масштабе.

В 1962 году С. М. Навашин был назначен на должность заместителя директора по научной работе Всесоюзного научно-исследовательского института антибиотиков (ВНИИА), который был создан в 1947 году как ВНИИ по пенициллину и другим антибиотикам с конструкторским бюро и экспериментальным заводом, а в 1952 году преоб-

разован во ВНИИ антибиотиков. В составе ВНИИА функционировал Отдел экспериментальной терапии и механизма действия антибиотиков, бессменным руководителем которого до 1962 года была академик АМН СССР З. В. Ермольева. С 1962 г. и до конца жизни этим отделом руководил С. М. Навашин. Опыт, полученный С. М. Навашиным в зарубежной командировке, пребывание в творческой атмосфере Лондона, Кембриджа и Оксфорда способствовали лучшему пониманию дальнейшего развития науки об антибиотиках в нашей стране. Эти соображения легли в основу доклада З. В. Ермольевой и С. М. Навашина руководству Минздрава СССР о необходимости разработки и производства полусинтетических пенициллинов в СССР. Этот период характеризовался интенсивным развитием и ростом отечественной промышленности антибиотиков, завершением строительства ряда крупных заводов, где осваивались новые технологии, разрабатываемые во ВНИИА. Институт становится ведущим научно-технологическим центром в области антибиотиков в стране.

В 1975 году С. М. Навашин возглавил ВНИИА, преобразованный в 1991 году в Государственный научный центр по антибиотикам (ГНЦА), оставаясь в должности его генерального директора вплоть до своей смерти 22 октября 1998 года. Незаурядный талант С. М. Навашина как руководителя и учёного позволил вывести разработки института на современный уровень, а промышленное производство антибиотиков в 70-е годы в нашей стране — на второе место в мире как по объёму, так и по номенклатуре выпускаемых препаратов.

Очень близко по времени с работами фирмы «Beecham» в Англии проводились исследования и во ВНИИА по получению из бензилпенициллина его бета-лактамного ядра — 6-аминопенициллановой кислоты (6-АПК), а затем на её основе — оксациллина, метициллина и диклоксациллина, на примере которых можно было говорить о возможности преодоления стафилококковой пенициллинорезистентности с помощью новых бета-лактамных структур. Это же направление работ во ВНИИА дало возможность внедрить в наши клиники ампициллин, комбинированный препарат ампиокс, а также карбенициллин — первый пенициллин с антисинегнойной активностью.

Разработка ферментативных методов получения ключевых соединений, в первую очередь 6-АПК, для создания серии полусинтетических пенициллинов была удостоена Государственной премии СССР. Научным руководителем работы был профессор С. М. Навашин. Вскоре начинаются работы по получению полусинтетических цефалоспоринов. По инициативе С. М. Навашина и химиков ВНИИА была начата организация в Пензе Филиала ВНИИА, специализированного

на разработке цефалоспориновых антибиотиков расширенного спектра действия.

С. М. Навашин был решительным сторонником расширения перечня применяемых в клинике аминогликозидных антибиотиков. Хорошо зная проводимые в этом направлении работы во всем мире, С. М. Навашин всячески поддерживал и способствовал внедрению в производство гентамицина и сизомицина. С. М. Навашин способствовал исследованиям по разработке и внедрению полусинтетических тетрациклинов пролонгированного действия — метациклина и доксициклина, характеризующихся благоприятными фармакокинетическими и фармакологическими свойствами по сравнению с природными тетрациклинами. Также был разработан и внедрен в практику рифампицин, являющийся основным компонентом современных схем комбинированной терапии туберкулёза, вызванного полирезистентными штаммами микобактерий туберкулёза, и кроме того, один из наиболее эффективных препаратов при лечении особо опасных инфекций.

Необходимо отметить, что ВНИИА под руководством С. М. Навашина сыграл «идеологическую» роль в исследованиях по разработке в нашей стране фторхинолонов. Работы велись в содружестве с Уральским политехническим институтом.

С. М. Навашин всегда глубоко интересовался проблемами иммунитета. Первый цикл его фундаментальных исследований был связан с иммуностимуляторами микробного происхождения и скринингом противоопухолевых антибиотиков. Им была предложена система скрининга, основанная на применении первичных эксплантатов опухолей человека, что позволило корректировать результаты, получаемые на экспериментальных моделях опухолей, с клиническими данными. Эти исследования были обобщены С. М. Навашиным в докторской диссертации на тему: «Экспериментальное изучение противоопухолевого действия некоторых метаболитов микроорганизмов», успешно защищённой в 1968 году. Работы по скринингу противоопухолевых антибиотиков впоследствии нашли продолжение в комплексном изучении оригинальных, получивших практическое значение препаратов реумицина, вариамицина, дактиномицина и фермента L-аспарагиназы.

В целом скрининг новых антибиотиков и корректоров гомеостаза во ВНИИА непрерывно расширялся, и в Коллекции штаммов ВНИИА имелись продуценты многих новых интересных структур, дожидавшиеся своей очереди стать объектами исследования. Из оригинального штамма и по оригинальной технологии был получен важный для трансплантологии и лечения аутоиммунных заболеваний иммунодепрессант циклоспорин А.

Крупным достижением следует считать разработку оригинальной технологии получения путём микробиологического синтеза генноинженерного инсулина в конце 80-х — середине 90-х годов.

В 80-х годах проблема комбинированной антибиотикотерапии нашла отражение в разработке препарата из серии так называемых «защищённых беталактамов», состоявшего из пенициллина широкого спектра действия ампициллина и ингибитора многих бета-лактамаз — сульбактама.

Под руководством С. М. Навашина в начале 90-х годов был создан ряд липосомальных лекарственных форм на основе циклоспорина (циклолип), амфотерицина В, доксорубицина со сниженной токсичностью и пролонгированным эффектом.

Будучи врачом по образованию, С. М. Навашин всегда особое внимание уделял медико-биологическим исследованиям, связанным с разработкой фундаментальных и прикладных основ рациональной антибиотикотерапии. Начиная с 80-х годов, велась комплексная работа по отслеживанию распространения резистентных штаммов микроорганизмов в стационаре и у амбулаторных больных.

С. М. Навашин всегда был инициатором проведения научно-образовательной и методической работы в форме семинаров, симпозиумов, научных конференций по стратегическим вопросам антибиотикотерапии различных нозологических форм, проблемам бактериологической диагностики инфекций в отделениях интенсивной терапии, стационарах с высоким риском возникновения нозокомиальных инфекций.

На базе ВНИИА под руководством С. М. Навашина начала свою деятельность Комиссия по антибиотической политике, в которую вошли наиболее авторитетные врачи и руководители здравоохранения нашей страны. А связь с промышленностью антибиотиков осуществлялась прежде всего ежегодными координационными рабочими совещаниями с руководителями заводов. Связь науки и практики функционировала в течение нескольких десятилетий и «оборвалась» в пресловутые перестроечные годы.

Главным итогом деятельности С. М. Навашина в качестве генерального директора можно счи-

тать превращение ВНИИА-ГНЦА из сугубо технологического института в современный научно-методический центр по разработке принципов рациональной химиотерапии. Чтя академическую школу З. В. Ермольевой, в последние годы жизни Сергей Михайлович руководил кафедрой микробиологии Российской медицинской академии последипломного образования. Когда кафедра переживала трудные времена, С. М. Навашин выделил для неё помещения в здании ГНЦА, где были созданы благоприятные условия для проведения занятий, а учебный процесс расширился за счёт введения курса «Клиническая химиотерапия», на котором читали лекции известные специалисты в этой области, в том числе сотрудники ГНЦА.

Под научным руководством С. М. Навашина были подготовлены и защищены 5 докторских и 30 кандидатских диссертаций. Он известен как автор 10 монографий по различным аспектам антибиотиков и антибиотикотерапии, среди них: «Справочник по антибиотикам», «Полусинтетические пенициллины», «Антибиотики группы аминогликозидов», «Рациональная антибиотикотерапия (справочник)» и др., которые выдержали ряд переизданий, оставаясь в течение долгого времени практически единственными руководствами для врачей, научных сотрудников и студентов.

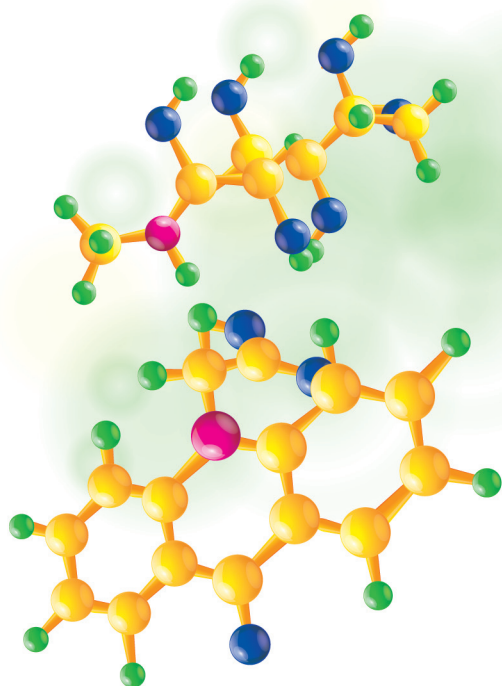
В 1956 году С. М. Навашин вместе с З. В. Ермольевой основал наш журнал «Антибиотики и химиотерапия», который стал одним из четырёх журналов мира, посвящённых антибиотикам. Многие годы он был его главным редактором, уделяя большое внимание научному авторитету журнала. На ежемесячных заседаниях редколлегии всегда шло обсуждение поступивших статей, обсуждались планы и заказы на публикации. Он всегда дорожил авторитетом журнала и был требователен к уровню статей, присланных для публикации в журнале.

Высокоэрудированный руководитель, талантливый ученый, остроумнейший человек, он навсегда остается в памяти, вызывая восхищение и уважение тех, кто его знал и работал с ним многие годы.

ЦИКЛОФЕРОН®

умное лекарство для лечения и профилактики гриппа и ОРВИ

БЕЗ РЕЦЕПТА



- ✓ Самый быстрый индуктор интерферона*
- ✓ Обладает прямым противовирусным действием
- ✓ Разрешен детям с 4-х лет и взрослым
- ✓ Сохраняет высокую эффективность даже при частом применении
- ✓ Снижает риск развития осложнений при гриппе и ОРВИ в 9 раз**

таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой 150 мг, N 10, 20, 50

ООО «НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ
ФИРМА «ПОЛИСАН»
INFO@POLYSAN.RU WWW.POLYSAN.RU

РОССИЯ, 192102, Г. САНКТ-ПЕТЕРБУРГ,
УЛ. САЛОВА, Д. 72, КОР. 2, ЛИТ. А,
ТЕЛ.: +7 (812) 710-82-25
ФАКС: +7 (812) 764-62-84



* Ершов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекулы до их лекарств). - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005.

** Доказано клинически (Исаков В.А., Романцов М.Г. и соавт. Эффективность Циклоферона в терапии и профилактике гриппа и ОРЗ. РМЖ 11, 2011).