

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 68



11–12'2023

Научно-практический журнал

Учредители:

Министерство здравоохранения
Российской Федерации

Государственный научный
центр по антибиотикам

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

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

Нагатинская ул., д. 3а, Москва, 117105.
Тел.: 89254723038
E-mail: journalgnca@yandex.ru
Зав. редакцией к. б. н. Л. Б. Смирнова
Корректор: Е. А. Крыкова
Перевод: О. С. Смирнова
Сайт: www.antibiotics-chemotherapy.ru

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

Тел.: 89254723038
E-mail: gncajournal@yandex.ru
Л. И. Гусак

ИЗДАТЕЛЬ:

Издательство «ОКИ»



Подписка через объединённый
каталог «Пресса России»
или через «Агентство «КнигаСервис»:
подписной индекс — Е71404

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

Установочный тираж 5000 экз.

Типография:
ООО «Литера»

Дата выхода: декабрь 2023

Свободная цена

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 68

11–12'2023

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Главный редактор

Чл. корр. РАН, профессор, д. м. н. Сидоренко С. В.

Зам. главного редактора

профессор, д. м. н. Яковлев С. В.

Отв. за выпуск — Белоусов Д. Ю.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Профессор, д. м. н. Белобородов В. Б.
Академик РАН, профессор, д. б. н. Говорун В. М.
Чл. корр. РАН, профессор, д. б. н. Ильина Е. Н.
Профессор, д. м. н. Колбин А. С.
Профессор, д. м. н. Кочеровец В. И.
Академик РАН, профессор, д. м. н. Лобзин Ю. В.
Профессор, д. х. н. Олсуфьева Е. Н.
Д. б. н. Переверзева Э. Р.
Д. м. н. Припутневич Т. В.
Профессор, д. м. н. Руднов В. А.
Д. б. н. Садыкова В. С.
Академик РАН, профессор, д. м. н. Сычев Д. А.
Д. х. н. Тевяшова А. Н.
Профессор, д. х. н. Тишков В. Н.
Чл. корр. РАН, профессор, д. б. н. Тутельян А. В.
Профессор, д. м. н. Шляпников С. А.
Профессор РАН, д. х. н. Щекотихин А. Е.

Научные редакторы

К. м. н. Кузнецова С. М.
К. б. н. Белявская И. В.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Беседнова Н. Н.
Богуш Т. А.
Васильев А. Н.
Волжанин В. М.
Дмитриева Н. В.
Захарова Ю. А.

Зуева Л. П.
Клясова Г. А.
Ленёва И. А.
Митрохин С. Д.
Тец В. В.
Ших Е. В.

Founders:

Ministry of Health
of the Russian Federation

State Scientific Center for Antibiotics

«Antibiotiki i Khimioterapiya»
(«Antibiotics and Chemotherapy»)
Monthly Scientific
and Practical Journal

Founded in 1956

Editorial office address:

3a Nagatinskaya st., Moscow, 117105
Russia
Tel.: +7-925-472-30-38
E-mail: journalgnca@yandex.ru
Head of the Editorial Office:
Ph. D. in Biology Lyudmila B. Smirnova
Proofreader: Ekaterina A. Krykova
Translator: Olga S. Smirnova
Website:
www.antibiotics-chemotherapy.ru

Advertising Department:

Tel.: 89254723038
E-mail: gncajournal@yandex.ru
Larisa I. Gusak

Publisher:

Izdatelstvo «OKI»



*Subscription through the united
catalogue «Pressa Rossii»
(«Russian Press») or through
«Agentstvo Kniga-Servis»
(«Book Service Agency»):
subscription index — E71404*

The journal is registered
with the Press Committee
of the Russian Federation
Registration certificate No. 0110694
dated May 25, 1993

Circulation: 5000 copies

Tipography:
ООО «Литера»

Release Date: December 2023
Free price

ISSN 0235-2990

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

ANTIBIOTIKI I KHIOTERAPIYA

Volume 68

11–12'2023

MONTHLY JOURNAL

Editor-in-Chief

Corresponding member of the RAS,
Professor, D. Sc. in Medicine Sergey V. Sidorenko
Deputy Editor-in-chief
Professor, D. Sc. in Medicine Sergey V. Yakovlev

RESPONSIBLE FOR THE ISSUE

Dmitry Yu. Belousov

MEMBERS OF EDITORIAL BOARD

Professor, D. Sc. in Medicine Vladimir B. Beloborodov
Academician of the RAS, Professor,
D. Sc. in Biology Vadim M. Govorun
Professor, D. Sc. in Biology Elena N. Ilyina
Professor, D. Sc. in Medicine Alexey S. Kolbin
Professor, D. Sc. in Medicine Vladimir I. Kocherovets
Academician of the RAS, Professor,
D. Sc. in Medicine Yuriy Yu. Lobzin
Professor, D. Sc. in Chemistry Evgenia N. Olsufieva
D. Sc. in Biology Eleonora R. Pereverzeva
D. Sc. in Medicine Tatyana V. Pripitnevich
Professor, D. Sc. in Medicine Vladimir A. Rudnov
D. Sc. in Biology Vera S. Sadykova
Academician of the RAS, Professor,
D. Sc. in Medicine Dmitry A. Sychev
D. Sc. in Chemistry Anna N. Tevyasheva
Professor, D. Sc. in Chemistry Vladimir N. Tishkov
Corresponding member of the RAS, Professor,
D. Sc. in Medicine Alexey V. Tutelyan
Professor, D. Sc. in Medicine Sergey A. Shlyapnikov
Professor, D. Sc. in Chemistry Andrey E. Shchekotikhin

Scientific Editors

Ph. D. in Medicine Svetlana M. Kuznetsova
Ph. D. in Biology Irina V. Belyavskaya

MEMBERS OF EDITORIAL BOARD

Natalia N. Besednova
Tatyana A. Bogush
Andrey N. Vasiliev
Valeriy M. Volzhanin
Natalya V. Dmitrieva
Yuliya A. Zakharova

Lyudmila P. Zueva
Galina A. Klyasova
Irina A. Leneva
Sergey D. Mitrokhin
Victor V. Tets
Evgenia V. Shikh

*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)

Экспериментальные исследования

- Семина А. Ю., Смирнова М. Ю., Соловский М. В.
Полимерные комплексы амикацина
с сульфосодержащими полимерами
Султанова Г. Г., Папшаде Т. С., Касумов Х. М.
Анализ спектральных характеристик
некоторых полиеновых антибиотиков
в присутствии ДМСО и холестерина
Сидоренко М. Л., Сидоренко В. А.
Антибактериальная активность этанольного экстракта
из плодового тела листовичной губки
Абаев В. Т., Качмазов Г. С., Гутнов А. В.,
Туаева А. Ю., Шпунтов П. М.
Чувствительность плесневых грибов *Aspergillus niger*
к новым синтетическим аналогам природных
изокумариновых антибиотиков

Клинические исследования и практика

- Степанов В. А., Понасенкова С. В., Симонова Е. С.,
Никифорова А. Г., Соболев П. Д., Глобенко А. А.,
Капашин А. В., Пасько М. А.
Изучение фармакокинетики
и безопасности лекарственного препарата Диоксидин®
раствор для местного и наружного применения,
0,25 мг/мл, при различных путях введения
Власова А. В., Куличенко Т. В., Смирнова Е. В.,
Дымнова Л. В., Волкова Н. Н., Сычев Д. А.
Метод WHO AWaRe для анализа клинической практики
антимикробной терапии в детских многопрофильных
стационарах России
Таубэ А. А., Журавлева М. В.
Методология создания системы управления рискам
возникновения межлекарственных взаимодействий

Обзоры

- Пчелин И. М., Гончаров А. Е.,
Асланов Б. И., Азаров Д. В.
Спектры литической активности бактериофагов
Кукурика А. В.
Удлинение интервала QT
при лечении лекарственно-устойчивого туберкулёза
Беседнова Н. Н., Запорожец Т. С., Ермакова С. П.,
Кузнецова Т. А., Галкина И. В., Федянина Л. Н.,
Омельченко Р. В., Щелканов М. Ю.
Природные соединения — потенциальная основа средств
профилактики и терапии гепатита С

Experimental Research

- 4 Semina Anastasia Yu., Smirnova Marianna Yu., Solovskii Mikhail V.
Polymer Complexes of Amikacin
with Sulfur-Containing Polymers
10 Sultanova Gulnar Hajibek kyzy, Pashazade Turkan Joshgun,
Kasumov Khalil M.
Analysis of Spectral Characteristics of Certain Polyene Antibiotics
in the Presence of Dmso and Cholesterol
19 Sidorenko Marina L., Sidorenko Vladislav A.
Antibacterial Activity of Ethanol Extract
of Larch Sponge Fruiting Body
23 Abaev Vladimir T., Kachmazov Gennady S., Gutnov Andrey V.,
Tuaeva Albina Y., Shpuntov Pavel M.
Sensitivity of Fungal Microbe *Aspergillus niger*
to New Synthetic Analogs
of Natural Isocoumarin Antibiotics

Clinical Research and Practice

- 30 Stepanov Vadim A., Ponasenkov Svetlana V., Simonova Evgenia S.,
Nikiforova Aiyuna G., Sobolev Pavel D., Globenko Alexander A.,
Kapashin Aleksey V., Pasko Maksim A.
Study of the Pharmacokinetics
and Safety of Dioxidine®, Solution for Topical
and External Use, 0.25 mg/ml, in Various Routes
of Administration
38 Vlasova Anna V., Kulichenko Tatyana V., Smirnova Elena V.,
Dymnova Liliya V., Volkova Nadezhda N., Sichev Dmytrii A.
WHO AWaRe Method for Analysis of Clinical Practice
of Antimicrobial Therapy in Children's Multidisciplinary
Hospitals in Russia
49 Taube Aleksandra A., Zhuravleva Marina V.
Methodology for Creating a Risk Management System
for Drug-Drug Interactions

Reviews

- 59 Pchelin Ivan M., Goncharov Artemiy E.,
Aslanov Batyrbek I., Azarov Daniil V.
Lytic Activity Spectra of Bacteriophages
67 Kukurika Anastasiia V.
QT-Interval Prolongation in the Treatment
of Drug-Resistant Tuberculosis
75 Besednova Natalia N., Zaporozhets Tatyana S.,
Ermakova Svetlana P., Kuznetsova Tatyana A.,
Galkina Irina V., Fedyanina Lyudmila N.,
Omelchenko Ruslan V., Shchelkanov Mikhail Yu.
Natural Compounds as Potential Basis for the Prevention
and Treatment of Hepatitis C

* 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 и кандидата наук.

Полимерные комплексы амикацина с сульфосодержащими полимерами

А. Ю. СЕМИНА¹, *М. Ю. СМЕРНОВА², М. В. СОЛОВСКИЙ²

¹ Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), Санкт-Петербург, Россия

² ФГБУН «Институт высокомолекулярных соединений РАН», Санкт-Петербург, Россия

Polymer Complexes of Amikacin with Sulfur-Containing Polymers

ANASTASIA YU. SEMINA¹, *MARIANNA YU. SMIRNOVA², MIKHAIL V. SOLOVSKII²

¹ Saint-Petersburg State Institute of Technology, Saint Petersburg, Russia

² Institute of Macromolecular Compounds of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

Резюме

Синтезированы полимерные комплексы амикацина на основе двух сульфосодержащих полимеров: декстран-сульфокислоты и поли-2-акриламида-2-метилпропансульфокислоты, содержащие, соответственно, 25 и 33 мас% антибиотика. Для полимеров-носителей были определены молекулярные массы и предельные ёмкости связывания. Образование полимерных комплексов было подтверждено методами ИК- и УФ-спектроскопии, а также методом ГПХ. Была исследована кинетика выделения амикацина из комплексов в воде при 37°C. Полученные комплексы проявляли высокую антибактериальную активность, близкую к контролю, и слабую противовирусную активность.

Ключевые слова: амикацин; декстрансульфокислота; поли-2-акриламида-2-метилпропансульфокислота; полимерные комплексы; противовирусная активность; антимикробная активность

Для цитирования: Семина А. Ю., Смирнова М. Ю., Соловский М. В. Полимерные комплексы амикацина с сульфосодержащими полимерами. *Антибиотики и химиотер.* 2023; 68 (11–12): 4–9. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-4-9>.

Abstract

Polymer complexes of amikacin based on two sulfonic polymers, dextran sulfonic acid and poly-2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic acid, containing 25 and 33 wt % of the antibiotic, respectively, have been synthesized. Molecular weights and limiting binding capacities were determined for carrier polymers. The formation of polymer complexes was confirmed by IR and UV spectroscopy, as well as by GPC. The kinetics of amikacin release from complexes was investigated in water at 37°C. The resulting complexes exhibited high antibacterial activity, close to control, and weak antiviral activity.

Keywords: amikacin; dextran sulphonic acid; poly-2-acrylamido-2-methylpropanesulfonic acid; polymer complexes; antiviral activity; antibacterial activity

For citation: Semina A. Yu., Smirnova M. Yu., Solovskii M. V. Polymer complexes of amikacin with sulfur-containing polymers. *Antibiotiki i Khimioter* = *Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68 (11–12): 4–9. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-4-9>.

Введение

Химия полимерных лекарственных препаратов, интенсивно развивающаяся область науки, позволила осуществить прорыв в лечении наиболее опасных вирусных и онкологических заболеваний. В соответствии с классической теорией, предложенной Х. Рингсдорфом в середине 1980-х годов, физиологически активные полимеры (ФАП) прививочного типа синтезируют путём

присоединения физиологически активного вещества (ФАВ) к инертному полимеру — носителю гидролизуемой химической связью. В условиях организма ФАВ выделяется в неизменном виде при гидролизе, а носитель, или продукты его деградации, выводятся, в большинстве случаев через почки за счёт клубочковой фильтрации. Этот подход помог решить множество задач в фармакологии, включая повышение терапевтического эффекта за счёт увеличения локальных концент-

© Коллектив авторов, 2023

*Адрес для корреспонденции: Большой пр., д. 31, Институт высокомолекулярных соединений, г. Санкт-Петербург, Россия, 199004. E-mail: smirnova_mariann@list.ru

© Team of Authors, 2023

*Correspondence to: 31 Bolshoy Avenue of Vasilevskiy Ostrov, Institute of Macromolecular Compounds, Saint Petersburg, 199004 Russia. E-mail: smirnova_mariann@list.ru

раций ФАВ на полимере-носителе; значительное снижение токсичности ФАВ; приобретение устойчивости к действию метаболизирующих ферментов и микроорганизмов, разрушающих ФАВ; обеспечение таргетной доставки ФАВ к поражённому органу [1–3].

В последнее время интерес представляют сульфосодержащие полимеры как природные, так и синтетические, обладающие противовирусной активностью. Эта активность возрастает с увеличением плотности отрицательно заряженных групп на цепи полимера. Сульфосодержащие полимеры могут выступать в качестве ингибиторов проникновения вируса в клетку, а также обладают низкой цитотоксичностью и низкой степенью формирования резистентных к этим соединениям штаммов вирусов [4].

Поли-2-акриламидо-2-метилпропансульфокислота (поли-ААМПСК) ранее применялась для модификации ФАВ только авторами статьи, а также известны лишь единичные работы, в которых сульфокислота использовалась в составе сополимеров-носителей [5, 6].

Производные декстрана широко использовались в качестве носителей ФАВ [7–10]. В настоящее время установлено, что натриевая соль декстрансульфокислоты (ДСК) усиливает антивирусную активность белка интерферона, а также является мощным и селективным ингибитором различных оболочечных вирусов *in vitro*, таких как ретро-, герпес-, парамиксовирусы и др. [11, 12]. Кроме этого, декстран сульфат ингибирует репликацию *in vitro* вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) [13].

Вирусные заболевания часто сопровождаются возникновением бактериальной инфекции. Поэтому использование декстрансульфокислоты и поли-2-акриламидо-2-метилпропансульфокислоты в качестве полимеров-носителей антибиотиков является наиболее целесообразным. Ранее при создании ФАП не учитывалась собственная активность полимеров-носителей.

Цель работы — синтез полимерных комплексов (ПК) сульфосодержащих полимеров, обладающих собственной противовирусной активностью, с антимикробным веществом основного характера из группы аминогликозидов.

Материал и методы

Для проведения исследований использовали коммерческий декстран сульфат LOBA, амикацин сульфат (ОАО «Синтез»).

Поли-ААМПСК получали методом радикальной гетерофазной полимеризации в этаноле при 60°C, используя в качестве инициатора АИБН (2,2'-азобис(изобутиронитрил)).

На предварительном этапе декстран сульфат натрия переводили в декстрансульфокислоту на колонке с катионообменной смолой Duolite C 20 С фирмы Auctel. Сульфат амикацина переводили в амикацин основание на колонке с анионитом ЭДЭ-10 П. Полимерные комплексы получали в воде при массовом соотношении антибиотик–полимер, равном 1:3–4.

ИК спектры регистрировали на ИК Фурье-спектрометре «Vertex 70» фирмы Bruker при комнатной температуре в диапазоне 400–4000 см⁻¹. УФ-спектры антибиотика и его полимерных комплексов снимали на спектрофотометре СФ-256 УВИ (ЛОМО Фотоника) при длине волны $\lambda = 341,9$ нм. Содержание амикацина в полимерных солях определяли спектрофотометрически в комплексе с 2,4,6-тринитробензолсульфокислотой (ТНБС) по методике [14]. Препаративную гель-проникающую хроматографию низкого давления амикацина основания и полимерных комплексов проводили в дистиллированной воде на колонке (l = 20 см, d = 2 см) с гелем Сефадекс G-75. Скорость элюции составила 20 мл/ч. Фракции элюата анализировали в комплексе с ТНБС [14] при длине волны $\lambda = 341,9$ нм. В контрольном опыте была исследована элюция из колонки свободного амикацина. В колонку вводили пробу амикацина основания с концентрацией 5 мг/мл и собирали фракции элюата объёмом по 4 мл.

Антимикробную активность ПК амикацина на основе ДСК и поли-ААМПСК изучали методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде (бульоне Мюллера–Хинтона). Использовали тест-культуры — штаммы *Staphylococcus aureus* VT 209 Р или ATCC 6538-Р и *Escherichia coli* ATCC 25922.

Противовирусную активность полимерных комплексов с амикацином исследовали в отношении респираторно-синцитиального вируса человека, штамм А2 (RSV А2).

Скорость высвобождения амикацина из полимерных комплексов оценивали методом диализа через полупроницаемую мембрану. В левую ячейку установки для диализа вносили раствор ПК амикацина определённой концентрации (8–9 мг/мл) в дистиллированной воде, в правую ячейку вносили дистиллированную воду. Установку помещали в термостат с температурой 37°C и отмечали время начала гидролиза ПК. Затем через 2, 4, 6, 24, 48, 96 ч отбирали пробы из правой ячейки и определяли в них содержание свободного амикацина, прошедшего через мембрану, методом УФ-спектроскопии в комплексе с ТНБС при длине волны $\lambda = 341,9$ нм.

Результаты и обсуждение

Из сульфосодержащих полимеров в качестве полимеров-носителей антибиотика амикацина были выбраны ДСК и поли-ААМПСК с высокой плотностью сульфогрупп на полимерной цепи.

Декстрансульфокислота — почти идеальный носитель для создания ФАП прививочного типа. У неё есть биodeградирующая жёсткая основная цепь и реакционноспособные группы, способные связывать ФАВ с образованием ионных связей, гидролизующихся в организме без участия ферментов (рис. 1).

Поли-ААМПСК также является полимером с высокой плотностью заряжённых групп в макромолекулярной цепи, однако, в отличие от ДСК,

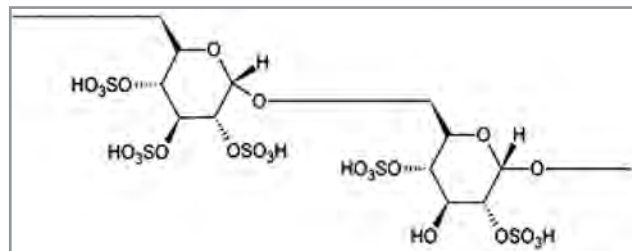


Рис. 1. Декстрансульфокислота.
Fig. 1. Dextran sulfonic acid.

она относится к гибкоцепным бионедеградируемым полимерам (рис. 2).

Кроме этого, у поли-ААМПСК сульфогруппа отделена от основной цепи мостиковой связью. Эти различия могут сказаться на образовании и стабильности ПК.

В качестве носителей антибиотика амикацина были использованы ДСК с молекулярной массой $MM = 90000$ и поли-ААМПСК ($MM = 33000$).

Для этих образцов нами была определена противовирусная активность в отношении вируса простого герпеса человека (HSV1). Уникальным по своей безопасности, эффективности и избирательности действия является препарат ацикловир (зовиракс), созданный в 70-х гг. в США, выпущенный компанией «Wellcome Foundation Ltd» — «GlaxoSmithKline». За прошедшие годы значимость препарата не снизилась, а, напротив, он стал общепризнанным «золотым стандартом» противогерпетической терапии. Установлено, что поли-ААМПСК, ДСК и зовиракс проявляют одинаковую противогерпетическую активность ($МПК = 100$ мкг/мл).

Антибиотик амикацин (АО) содержит в своём составе 4 первичные аминогруппы, которые могут взаимодействовать с сульфогруппами полимера-носителя, образуя полимерный комплекс (рис. 3).

Для подтверждения электростатического характера связывания амикацина с полимерами-носителями методом потенциометрического титрования были определены предельные ёмкости связывания, которые составили 341 мг АО на 1 г поли-ААМПСК и 841 мг АО на 1 г ДСК. Различие связано с количеством сульфогрупп на звене полимера: в случае ДСК на одном звене располагаются 3 сульфогруппы, в то время как на звене поли-ААМПСК располагается лишь одна сульфогруппа.

Для получения препаративных количеств полимерных солей комплексобразование проводили в водных растворах, при массовом соотношении антибиотик–полимер, равном 1:3–4. Содержание АО в полученных комплексах, по данным УФ-спектроскопии ($\lambda = 341,9$ нм), составило 33 масс% и 25 масс% для поли-ААМПСК и ДСК, соответственно.

Об отсутствии в полимерных комплексах несвязанного амикацина судили по данным препаративной гель-проникающей хроматографии низкого давления (рис. 4). Из хроматограмм видно, что исходный амикацин выходит из колонки объёмом с 72 по 104 мл, с максимумом при 84 мл. Полимерный комплекс выходит в диапазоне от 40 до 60 мл, т. е. намного раньше, чем свободный амикацин, что подтверждает образование полимерного комплекса и отсутствие примесей несвязанного антибиотика. Два максимума на

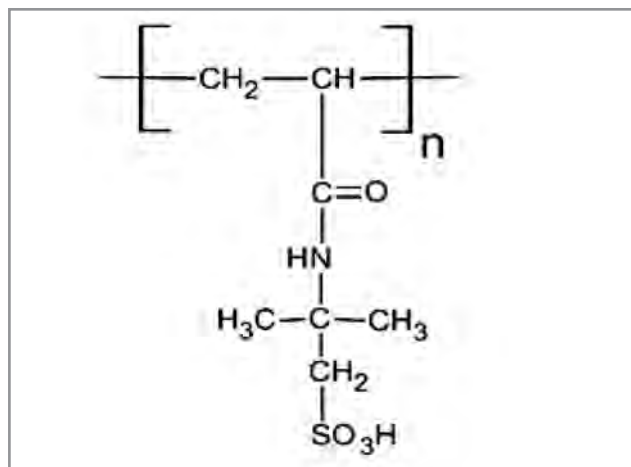


Рис. 2. Поли-2-акриламидо-2-метилпропансульфокислота.

Fig. 2. Poly-2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic acid.

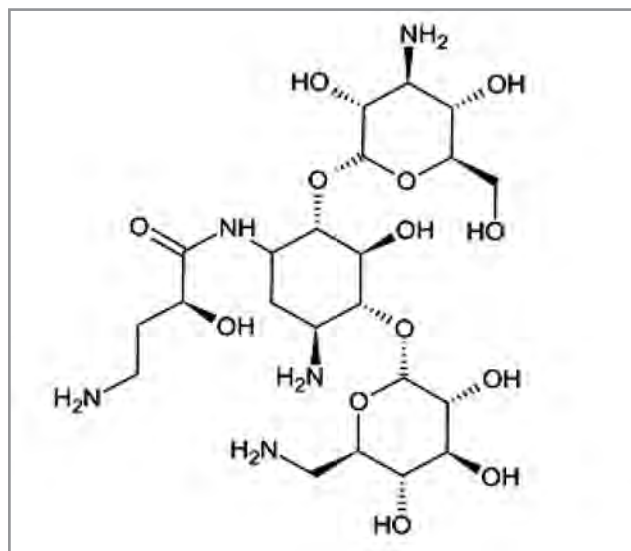


Рис. 3. Амикацин основание.

Fig. 3. Amikacin base.

кривой элюции полимерного комплекса могут объясняться неоднородностью исходной поли-ААМПСК по ММ.

Строение полученных полимерных комплексов подтверждалось методом ИК-спектроскопии. На ИК-спектре полимерного комплекса АО с ДСК (рис. 5) были обнаружены полосы поглощения сульфогрупп в области 1200 см^{-1} , 1020 см^{-1} и 650 см^{-1} . Солевая связь антибиотика с полимером подтверждается полосой 1525 см^{-1} , характерной для NH_3^+ иона. На ИК-спектре комплекса АО с поли-ААМПСК (рис. 6) строение полимера подтверждается наличием полос поглощения $\text{C}=\text{O}$ в области 1645 см^{-1} и 1538 см^{-1} , относящимися к валентным колебаниям NH группы и полосами 1150 см^{-1} , 1037 см^{-1} и 625 см^{-1} , которые относятся к группе SO_3H .

Противомикробную активность АО и его полимерных комплексов определяли методом дву-

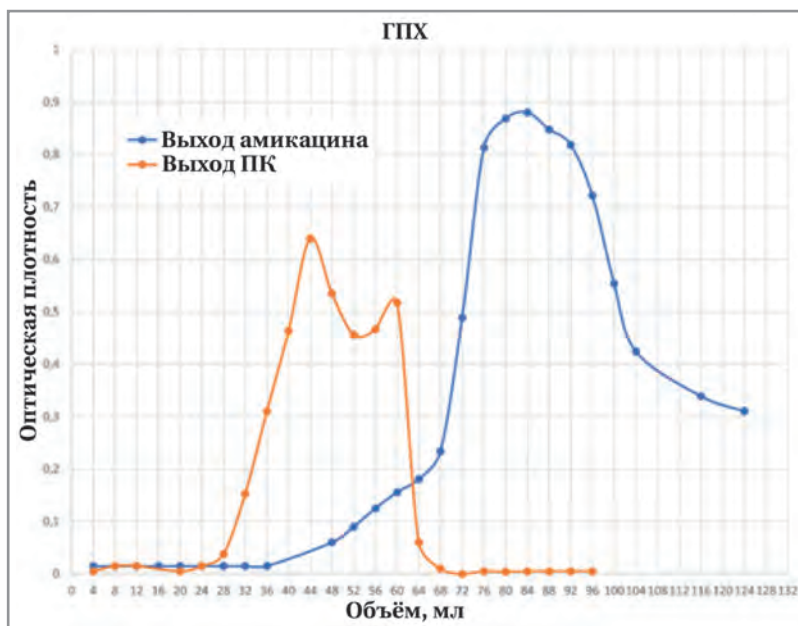


Рис. 4. Выходные кривые элюции амикацина основания и полимерного комплекса на основе поли-ААМПСК из колонки.
Fig. 4. Output curves for the elution of amikacin base and a polymer complex based on poly-AMPS from the column.

кратных разведений на тест-культурах *Staphylococcus aureus* VT 209P и *Escherichiae coli* ATCC 25922. Анализ значений минимальных подавляющих концентраций (МПК), представленных в табл. 1,

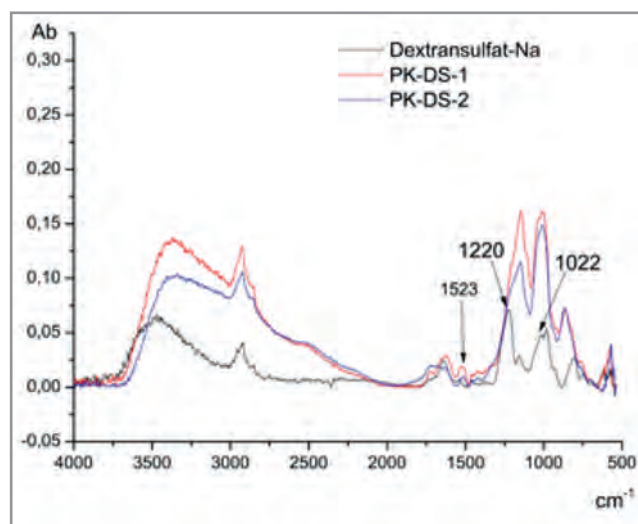


Рис. 5. ИК-спектр ПК на основе ДСК.
Fig. 5. IR spectrum of the DSA-based polymer complex.

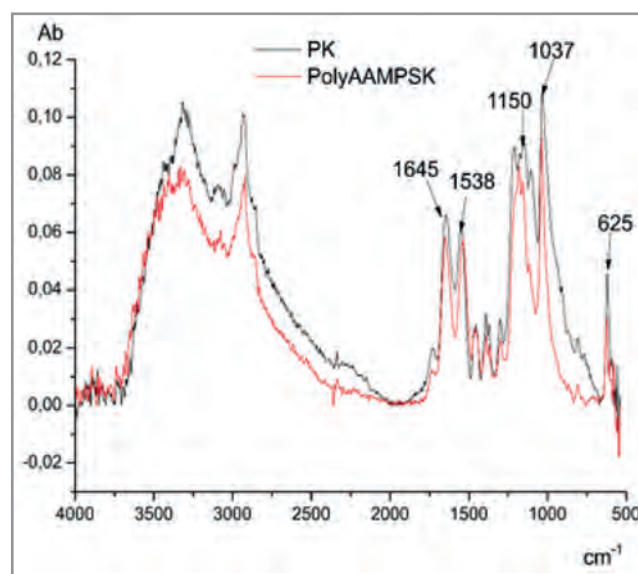


Рис. 6. ИК-спектр ПК на основе поли-ААМПСК.
Fig. 6. IR spectrum of poly-AMPS-based polymer complex.

Таблица 1. Значения МПК полимерных комплексов в отношении *S.aureus* и *E.coli* по сравнению с контролем
Table 1. MIC values of polymer complexes against *S.aureus* and *E.coli* compared to control

Название	Содержание АО, %	МПК, мкг/мл*	
		<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
Амикацин основание (контроль)	100	1,5	3,1
ПК с поли-ААМПСК	33	1,5	17
ПК с ДСК	25	3,1	25

Примечание. * — значение МПК указаны в пересчёте на содержание АО в полимерной форме.

Note. * — MIC values are indicated in terms of the amikacin content in polymer form.

показывает, что полученные полимерные соли проявляют активность против данных штаммов бактерий.

Из табл. 1 видно, что антибактериальная активность полимерных комплексов в отношении кишечной палочки оказалась значительно ниже, чем в отношении стафилококка. При этом значения МПК для комплекса АО с ДСК оказались выше, чем для комплекса АО с поли-ААМПСК, что, вероятно, связано с меньшим содержанием амикацина в образце.

Полимерные комплексы амикацина также были исследованы на активность в отношении респираторного синцитиального вируса человека штамма А2. Полученные результаты приведены в табл. 2.

Обнаружено, что цитотоксичность и химиотерапевтический индекс ПК АО зависят от характера использованного полимерного носителя. ПК АО на основе ДСК оказался менее токсичным и характеризовался большим значением ХТИ, чем ПК АО на основе поли-ААМПСК, что, вероятно, связано с различной природой полимера-носителя.

Таблица 2. Противовирусная активность полимерных комплексов

Table 2. Antiviral activity of polymer complexes

Комплекс	ЦТД ₅₀ , мкг/мл	ЭД ₅₀ , мкг/мл	ХТИ
АО на основе поли-ААМПСК	67,7	44	2
АО на основе ДСК	333,9	66,5	6,5

Примечание. ЦТД₅₀ — цитотоксическая доза — концентрация, вызывающая гибель 50% клеток в монослое. ЭД₅₀ — эффективная доза — доза вещества, обеспечивающая развитие желаемого лечебного эффекта у 50% клеток монослоя. Максимально возможное значение ЭД₅₀ равно значению ЦТД₅₀. ХТИ — химиотерапевтический индекс, равен отношению ЦТД к ЭД. Индекс меньше единицы показывает неэффективность препарата, т. е. любая доза, которая вызывает положительный эффект, токсична. Средним пороговым значением считается 10, лучшие лекарства (из всего множества) имеют 100+. Препараты исследуемой группы имеют пороговое значение ХТИ, хоть ЭД достаточно низка.

Note. ЦТД₅₀ — cytotoxic dose — concentration causing death of 50% of cells in a monolayer. ЭД₅₀ — effective dose — a dose of a substance that ensures the development of the desired therapeutic effect in 50% of the monolayer cells. The maximum possible value of ЭД₅₀ is equal to the value of ЦТД₅₀. ХТИ — chemotherapy index, equal to the ratio of ЦТД to ЭД. An index less than one indicates the ineffectiveness of the drug, i. e. any dose that produces a positive effect is toxic. The average threshold value is 10, the best medicines (from the whole set) have 100+. The medicines in the study group have a threshold value for ХТИ, although ЭД is quite low.

Таблица 3. Кинетика высвобождения амикацина из полимерных комплексов в воде, 37°C

Table 3. Kinetics of amikacin release from polymer complexes in water at 37°C

Время, ч	Количество высвободившегося АО, %	
	ПК с поли-ААМПСК	ПК с ДСК
2	14,2	46,7
4	16,3	73,0
6	19,9	84,0
24	35,1	89,5
48	46,6	90,4
96	67,6	97,3

Для полученных полимерных комплексов была исследована кинетика выделения амикацина методом диализа через полупроницаемую мембрану. Из табл. 3 видно, что антибиотик постепенно высвобождается из полимерных комплексов.

При этом скорость выделения амикацина из комплекса на основе поли-ААМПСК значительно ниже, чем из комплекса на основе ДСК. Этот результат обусловлен тем, что ПК на основе поли-ААМПСК в растворе имеет конформацию рыхлой глобулы, в которой полимерные цепи обволаки-

вают антибиотик вместе с солевой связью, препятствуя, тем самым его быстрому высвобождению. В случае ДСК картина иная, заряженные сульфогруппы жестко фиксированы на полимерной цепи, что облегчает разрыв солевых связей и переход антибиотика в раствор. Данные кинетики гидролиза позволяют сделать вывод о том, что на основе поли-ААМПСК получена пролонгированная форма амикацина.

Таким образом, на основе ДСК и поли-ААМПСК получены комплексы амикацина, обладающие антимикробной и слабой противовирусной активностью. Противовирусная активность полимера-носителя может возрасти после отщепления антибиотика, в результате освобождения всех сульфогрупп. Комплекс на основе поли-ААМПСК обладает пролонгированным антимикробным действием.

Дополнительная информация

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Рег. №НИОКР АААА-А20-120022090044-2.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

1. Ушаков С.Н. Синтетические полимеры медицинского назначения. Л.: Медицина, 1962; 42. [Ushakov S.N. Sinteticheskie polimery meditsinskogo naznacheniya. L.: Meditsina, 1962; 42. (in Russian)]
2. Копечек Й. Полимеры с управляемой биodeградируемостью как носители биологически активных веществ. Журнал Всесоюзного химического общества им. Д. И. Менделеева. 1985; 30 (4): 372–377. [Kopchek J. Polimery s upravlyaej biodegradiruemoj' ju kak nositeli biologicheskii aktivnykh veshchestv. Zhurnal Vsesojuznogo Khimicheskogo Obshchestva im. D. I. Mendeleeva. 1985; 30 (4): 372–377. (in Russian)]
3. Хомяков К.П., Вирник А.Д., Роговин З.А. Пролонгирование действия лекарственных препаратов путём использования их в смеси с полимерами или присоединения к полимерам. Успехи химии. 1964; 33 (9): 1051–1061. [Khomyakov K.P., Virnik A.D., Rogovin Z.A. Prolongirovanie dejstviya lekarstvennykh preparatov putem ispol'zovaniya ikh v smesi s polimerami ili prisoedineniya k polimeram. Uspekhi Khimii. 1964; 33 (9): 1051–1061. (in Russian)]
4. Тучная О.А., Горлачук О.В., Лившиц В.А., Каширичева И.И., Шастина Н.С., Юркевич А.М., Швеиц В.И. Синтез анионных производных миоинозита и других полиолов и исследование их антивирусной активности. Химико-фармацевтический журнал. 2008; 42 (1): 6–12. [Tuchnaya O.A., Gorchuk O.V., Livshits V.A., Kashiricheva I.I., Shastina N.S., Jyurkevich A.M., Shvets V.I. Sintez anionnykh proizvodnykh mioinozita i drugikh polioloj i issledovanie ikh antivirussnoy aktivnosti. Khimiko-Farmatsevticheskij Zhurnal. 2008; 42 (1): 6–12. (in Russian)]
5. Соловский М.В., Борисенко М.С., Смирнова М.Ю., Еропкина М.Ю., Еропкина Е.М., Тарабукина Е.Б. Полимерные комплексы антибиотика рифампицина на основе поли-2-акриламида-2-метилпропансульфокислоты. Химико-фармацевтический журнал. 2022; 56 (8). doi: <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-8-17-20>. [Solovskij M.V., Borisenko M.S., Smirnova M.Jyu., Eroпкиn M.Jyu., Eroпкиna E.M., Tarabukina E.B. Polimernye komplekсы antibiotika rifampitsina na osnove poli-2-akrilamido-2-metilpropansul'fokisloty. Khimiko-farmatsevticheskij zhurnal. 2022; 56 (8). doi: <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-8-17-20>. (in Russian)]

6. Еропкин М.Ю., Соловский М.В., Тихомирова О.М., Брызжикова Т.С., Смирнова М.Ю., Еропкина Е.М., Смирнова Т.С. Получение и биологическая активность комплексов сульфосодержащих полимерных анионов и гентамицина. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2012; 72 (5): 38–42. [Eropkin M.Jyu., Solovskij M.V., Tikhomirova O.M., Bryazhnikova T.S., Smirnova M.Jyu., Eropkina E.M., Smirnova T.S. Poluchenie i biologicheskaya aktivnost' kompleksov sul'fosoderzhashchikh polimernykh anionov i gentamitsina. Eksperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya. 2012; 72 (5): 38–42. (in Russian)]
7. Соловский М.В. Модификация физиологически активных веществ полимерами: учебное пособие. СПб. : Изд-во Политехнического университета. 20124; 115. [Solovskij M.V. Modifikatsiya fiziologicheskii aktivnykh veshchestv polimerami: uchebnoe posobie. SPb. : Izd-vo Politehnicheskogo universiteta. 20124; 115. (in Russian)]
8. Guarino V.A., Blau A., Alvarenga J., Loscalzo J., Zhang Y. A crosslinked dextran sulfate-chitosan nanoparticle for delivery of therapeutic heparin-binding proteins. Int J Pharm. 2021; 610: 121287. doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.121287. Epub 2021 Nov 11.
9. Kikuchi T., Matsuura K., Shimizu T. Non-coating method for non-adherent cell culture using high molecular weight dextran sulfate and bovine serum albumin. J Biosci Bioeng. 2021; 132 (5): 537–542. doi: 10.1016/j.jbiosc.2021.08.006.
10. Снежко В.А., Комар В.П., Хомяков К.П., Вирник А.Д., Жбанков Р.Г., Розенберг Г.Я., Роговин З.А. Синтез водорастворимых производных декстрана, содержащих химически присоединённые антибиотики. Высокомолекулярные соединения. 1974; 16 А (10): 2233–2238. [Snezhko V.A., Komar V.P., Khomyakov K.P., Virnik A.D., Zhbakov R.G., Rozenberg G.Ya., Rogovin Z.A. Sintez vodorastvorimyykh proizvodnykh dekstrana, soderzhashchikh khimicheski prisoedinennye antibiotiki. Vysokomolekulyarnye Soedineniya. 1974; 16 А (10): 2233–2238. (in Russian)]
11. Панарин Е.Ф. Полимерные лекарства и биологически активные вещества. Итоги полувековых исследований и перспективы. Полимеры и медицина. 2005; 1: 20–24. [Panarin E.F. Polimernye lekarstva i biologicheski aktivnye veshchestva. Itogi poluvekovykh issledovaniy i perspektivy. Polimery i Meditsina. 2005; 1: 20–24. (in Russian)]
12. Herrmann A., Korte T., Arnold K., Hillebrecht B. The influence of dextran sulfate on influenza A virus fusion with erythrocyte membranes. Antiviral Res. 1992; 19 (4): 295–311. doi: 10.1016/0166-3542(92)90011-s.
13. Ito M., Baba M., Sato A., Pauwels R., De Clercq E., Shigeta S. Inhibitory effect of dextran sulfate and heparin on the replication of human immunodeficiency virus (HIV) in vitro. Antiviral Res. 1987; 7: 361–367. doi: 10.1016/0166-3542(87)90018-0.
14. <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/D00386-.pdf>

Информация об авторах

Семина Анастасия Юрьевна — Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), Санкт-Петербург, Россия

Смирнова Марианна Юрьевна — к. х. н, научный сотрудник лаборатории № 2 ИВС РАН ФГБУН Институт высокомолекулярных соединений Российской Академии Наук, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0003-2471-297X. ResearcherID: N-3040-2016

Соловский Михаил Васильевич — ФГБУН Институт высокомолекулярных соединений Российской Академии Наук, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0001-7950-0873. ResearcherID: I-9072-2017

About the authors

Anastasiya Yu. Semina — Saint-Petersburg State Institute of Technology, Saint Petersburg, Russia

Marianna Yu. Smirnova — Ph. D. in Chemistry, Researcher at the Laboratory No. 2, Institute of Macromolecular Compounds of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-2471-297X. ResearcherID: N-3040-2016

Michail V. Solovskij — Institute of Macromolecular Compounds of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0001-7950-0873. ResearcherID: I-9072-2017

АНАЛИЗ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК НЕКОТОРЫХ ПОЛИЕНОВЫХ АНТИБИОТИКОВ В ПРИСУТСТВИИ ДМСО И ХОЛЕСТЕРИНА

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

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

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

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

Kh. M. KASUMOV

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

Резюме

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

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

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

Abstract

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

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

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

Введение

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

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

© Коллектив авторов, 2023

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

© Team of Authors, 2023

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

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

Материал и методы

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

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

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

Результаты и обсуждение

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

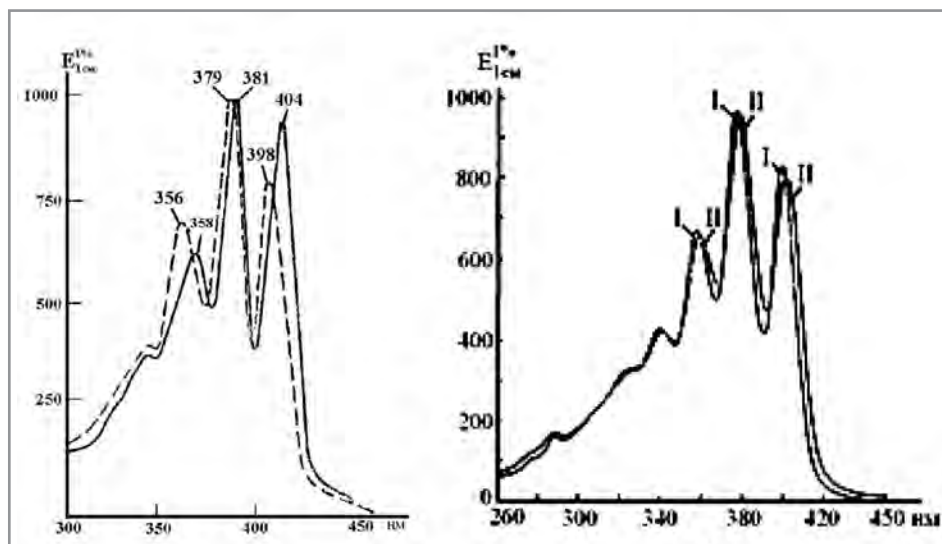


Рис. 1. УФ-спектры леворина А и леворина В в диметилсульфоксиде (а), а также леворина и кандидина (б).

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

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

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

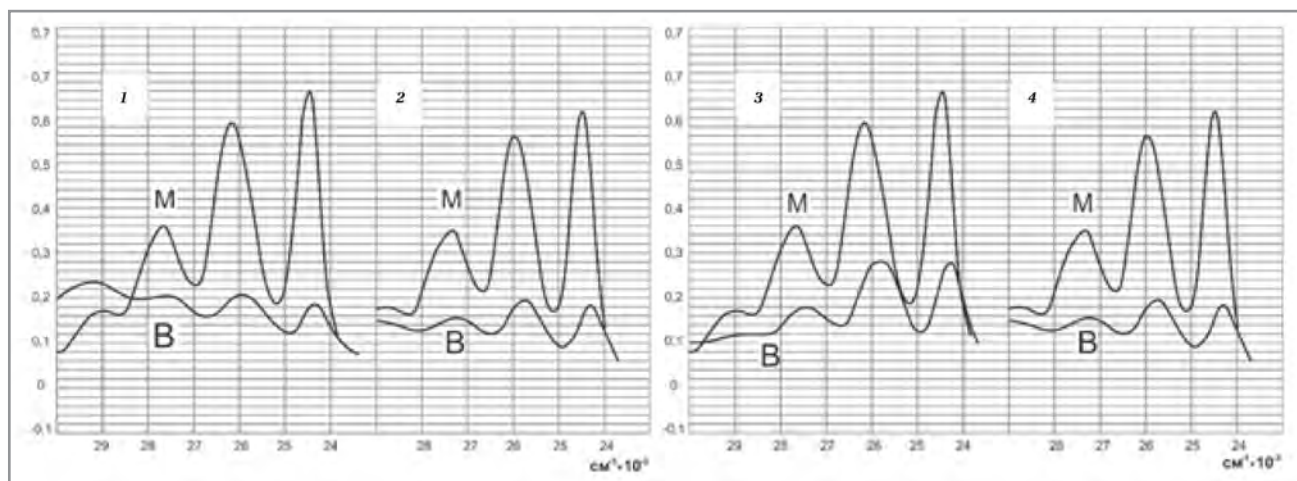


Рис. 2. УФ спектры исходного амфотерицина В (1) и его алкильных производных: метил — (2), этил — (3), пропил — (4) при концентрациях 3×10^{-5} М в метаноле (М) и в воде (В).

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

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

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

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

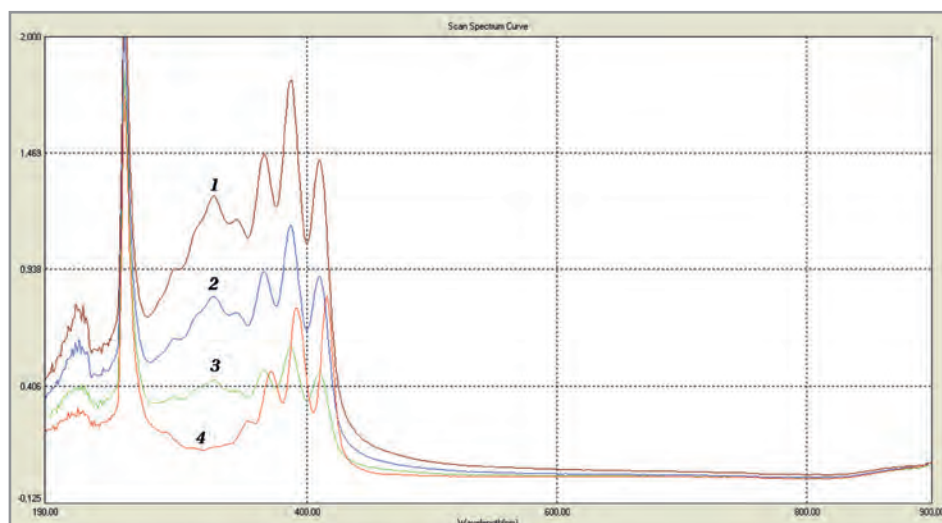


Рис. 3. УФ Спектры леворина и амфотерицина В в различных концентрациях.

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

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

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

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

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

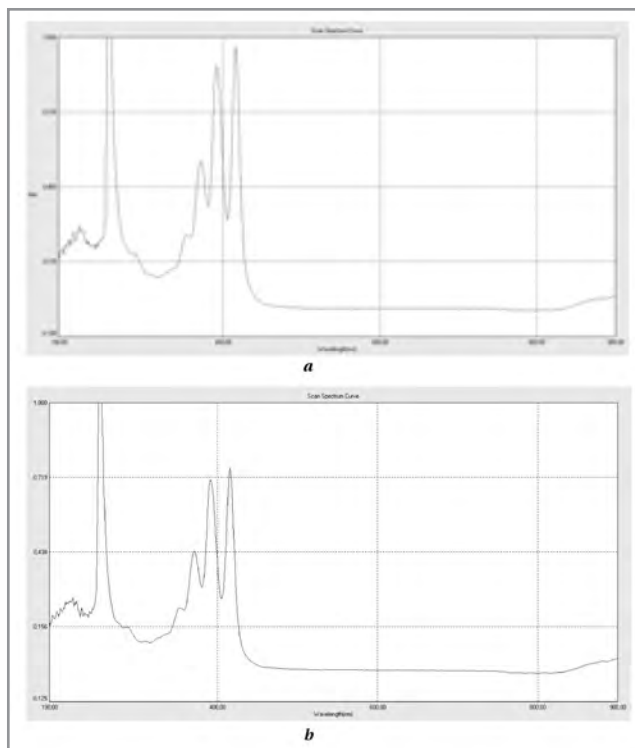


Рис. 4. УФ-спектры леворина и амфотерицина.

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

Fig. 4. A-UV spectra of levorin.

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

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

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

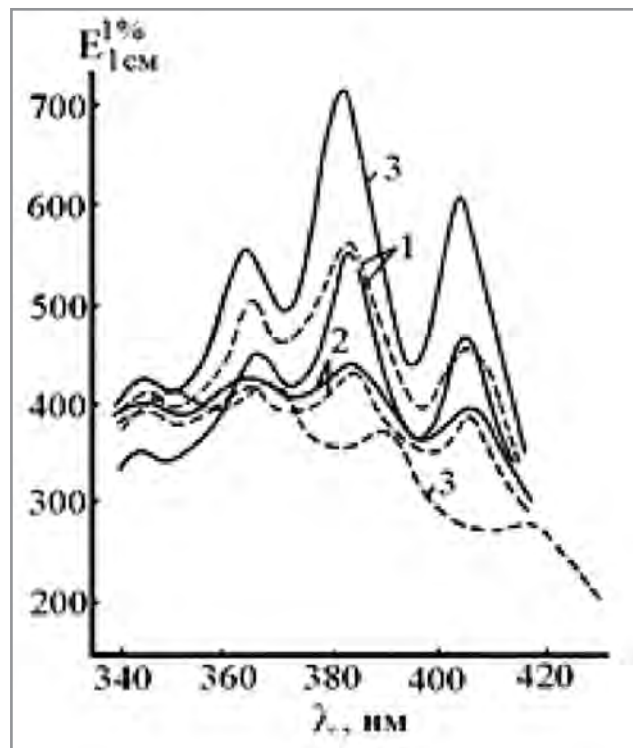


Рис. 5. УФ спектры поглощения водорастворимых производных леворина в воде.

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

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

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

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

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

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

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

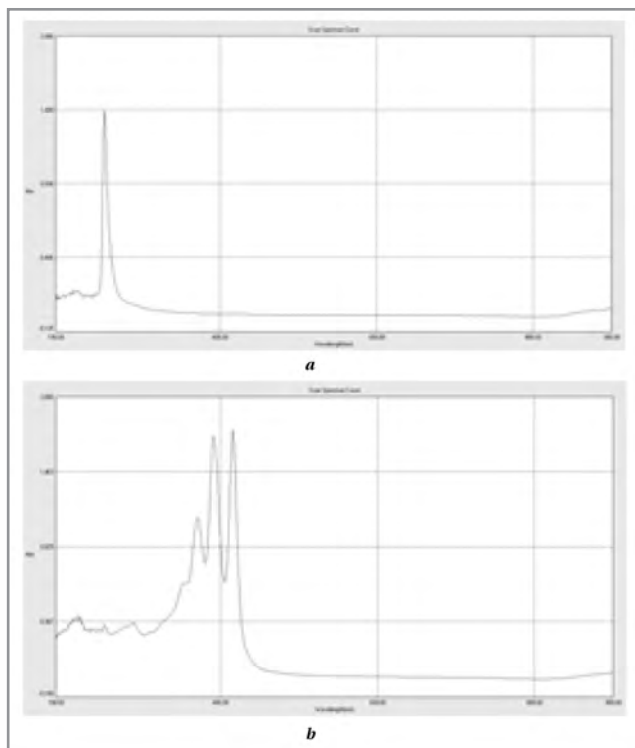


Рис. 6. УФ-спектр ДМСО.

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

Fig. 6. A-UV spectrum of DMSO.

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

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

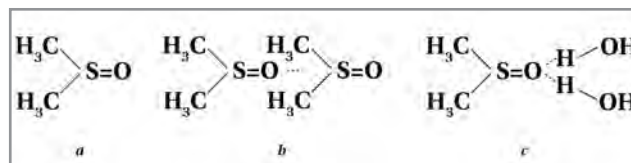


Рис. 7. Схематическое изображение молекулярной структуры ДМСО с полярной S=O связью.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Закключение

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

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

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

Вывод

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

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

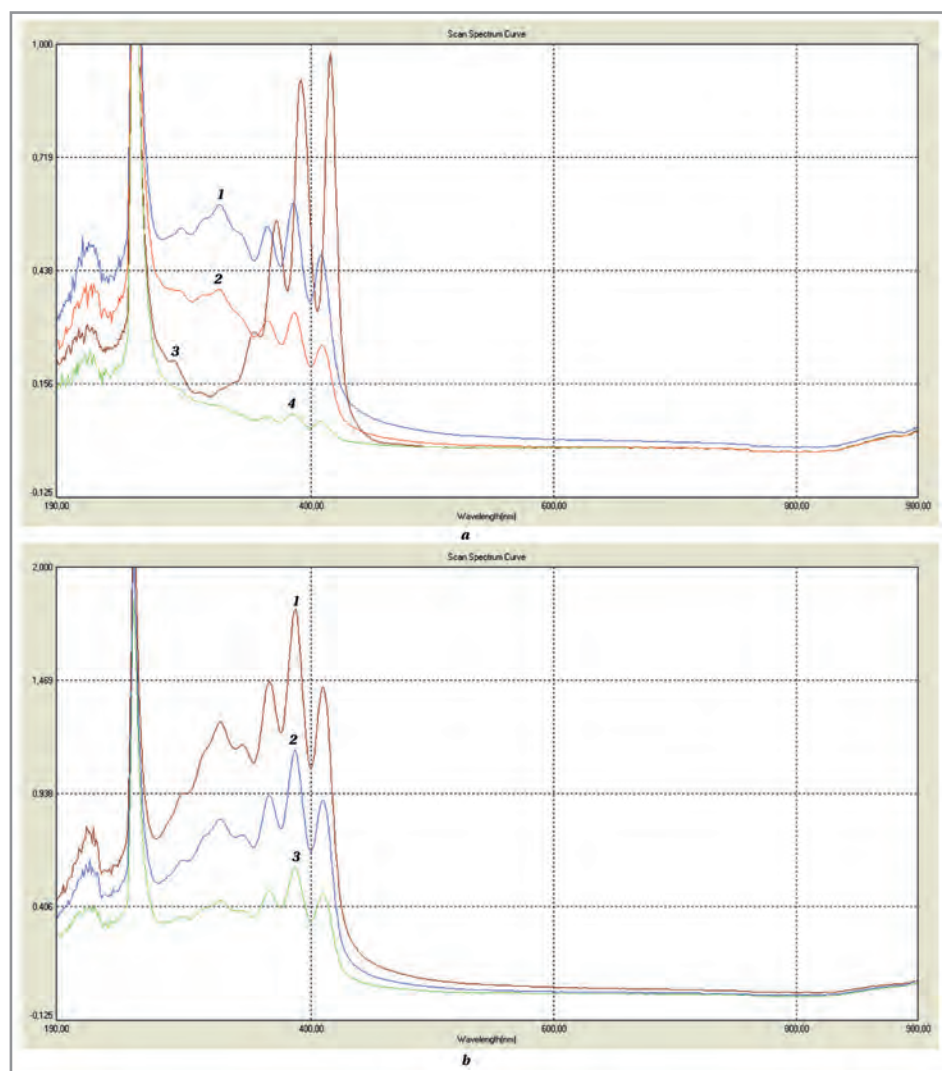


Рис. 8. Спектры УФ.

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

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

Fig. 8. UV spectra.

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

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

Литература/References

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

Информация об авторах

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

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

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

About the authors

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

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

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

Антибактериальная активность этанольного экстракта из плодового тела лиственничной губки

*М. Л. СИДОРЕНКО¹, В. А. СИДОРЕНКО²

¹ ФГБУН «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН, Владивосток, Россия

² ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток, Россия

Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Larch Sponge Fruiting Body

*MARINA L. SIDORENKO¹, VLADISLAV A. SIDORENKO²

¹ Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

² Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

Резюме

Антибиотикоустойчивость патогенных бактерий является мировой проблемой. В последние годы возрос интерес к оценке растений и грибов с антибактериальной активностью в отношении различных инфекционных агентов. Изучена антибактериальная активность этанольного экстракта плодового тела *Laricifomes officinalis* (Vill.) Kotl. et Pouzar (Polyporaceae). Активность оценивали диско-диффузионным методом. Этанольный экстракт *L. officinalis* проявлял высокую активность против *Yersinia pseudotuberculosis*, умеренную против *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*. *Listeria monocytogenes* оказались не чувствительны к этанольному экстракту из плодового тела *L. officinalis*.

Ключевые слова: лекарственные грибы; *Laricifomes officinalis*; антибактериальная активность, этанольный экстракт

Для цитирования: Сидоренко М. Л., Сидоренко В. А. Антибактериальная активность этанольного экстракта из плодового тела лиственничной губки. *Антибиотики и химиотер.* 2023; 68 (11–12): 19–22. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-19-22>.

Abstract

Antibiotic resistance in pathogenic bacteria is a worldwide problem. In recent years, there has been increasing interest in the evaluation of plants and fungi with antibacterial activity against various infectious agents. The antibacterial activity of ethanol extract of *Laricifomes officinalis* (Vill.) Kotl. et Pouzar (Polyporaceae) fruiting body was studied. Activity was assessed using the disk diffusion method. *L. officinalis* ethanol extract showed high activity against *Yersinia pseudotuberculosis*, as well as moderate activity against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, and *Staphylococcus aureus*. *Listeria monocytogenes* were not sensitive to ethanol extract of the fruiting body of *L. officinalis*.

Keywords: medicinal mushrooms; *Laricifomes officinalis*; antibacterial activity, ethanol extract

For citation: Sidorenko M. L., Sidorenko V. A. Antibacterial activity of ethanol extract of larch sponge fruiting body. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2023; 68 (11–12): 19–22. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-19-22>.

Введение

Несмотря на широкую доступность клинически значимых антибиотиков и их полусинтетических аналогов, ведётся постоянный поиск новых перспективных противомикробных агентов. Большинство используемых в настоящее время антибиотических препаратов являются дорогостоящими и не всегда эффективны. Основным препятствием для их дальнейшего использования является резко возрастающее развитие резис-

тентности бактерий к антибиотикам [1–3]. В связи с чем, существует острая необходимость в новых лекарственных препаратах, которые смогут действовать в течение более длительного периода времени, прежде чем наступит резистентность.

Природные ресурсы являются важными источниками новых лекарств. В последние годы возрос интерес к растениям и грибам, обладающим антибактериальной активностью в отношении различных инфекционных агентов. Грибы

© Коллектив авторов, 2023

*Адрес для корреспонденции: проспект 100-летия Владивостока, 159, ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, г. Владивосток, Россия, 690022. E-mail: sidorenko@biosoil.ru

© Team of Authors, 2023

*Correspondence to: 159 Stoletiya Vladivostoka Avenue, Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Vladivostok, 690022 Russia. E-mail: sidorenko@biosoil.ru

представляют собой обширный и в то же время в значительной степени неиспользованный источник новых мощных фармацевтических продуктов. По некоторым оценкам, на Земле существует от 100 до 250 тыс. грибов [4]. Плодовые тела и мицелий грибов принимают для лечения хронической гепатопатии, гипертонии, бронхита, артрита, невралгии и неоплазии в некоторых странах, особенно в странах Восточной Азии [5–7].

Одними из представителей царства грибов, обладающими такими качествами являются *Laricifomes officinalis* (Vill.) Kotl. et Pouzar (*Polyporaceae*) — древоразрушающие базидиальные грибы, растущие на стволах лиственниц. В России этот гриб известен как лиственничная губка или трутовик лекарственный. В китайской и японской медицине плодовые тела *L. officinalis* считаются панацеей от всех видов заболеваний [8–10]. Медицинское использование лиственничной губки, было известно коренным индейским племенам Северной Америки. Есть записи, что молотая, известковая, белая мякоть использовалась при лечении многих недугов [11].

Известно, что *L. officinalis* продуцирует биологически активные соединения, обладающие противоопухолевой [12], противовоспалительной [13] активностью, препятствуют образованию тромбов [14, 15]. Различные исследования указывают на бактерицидную активность лиственничной губки и её углекислотных экстрактов в отношении ряда условно-патогенных микроорганизмов [16, 17] и микобактерий туберкулёза [18]. Имеются указания на антибактериальную активность поверхностно выращенного мицелия гриба в отношении разных штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* [19, 20].

Спиртовый экстракт *L. officinalis* включает комплекс липидов, витаминов Е и К, каротиноидов, фенольных соединений, а также агарициновую кислоту [16]. Последняя считается основным действующим веществом [21], оказывающим разобщающее действие на клеточное дыхание и фосфорилирование [9]. Кроме того, установлено, что агарициновая кислота способна ингибировать процессы перекисного окисления липидов [8, 9], обладая антиоксидантным действием [22]. Агарициновую кислоту выделяли из плодового тела [21] и лабораторной мицелиальной культуры лиственничной губки [23]. Установлено, что агарициновая кислота из лиственничной губки не угнетает рост *Escherichia coli*, но обладают выраженной активностью в отношении грамположительных микроорганизмов рода *Bacillus* и подавляют рост спорообразующих микроорганизмов [24]. Кроме того, из этанольных экстрактов плодовых тел *L. officinalis* были получены и идентифицированы два новых хлоринатных кумарина, которые, по мнению исследователей, отвечают за антимикробную активность вида [18].

В целом, исследования, проведённые на лиственничной губке, направлены на изучение либо химического состава, либо комбинации химических/фармакологических свойств гриба.

Цель работы — изучить антибактериальную активность этанольного экстракта базидиального гриба *Laricifomes officinalis* (Vill.) Kotl. et Pouzar (*Polyporaceae*) в отношении ряда патогенных бактериальных штаммов.

Материал и методы

В работе использовано плодовое тело (базидиома) гриба *Laricifomes officinalis* (Vill.) Kotl. et Pouzar (= *Fomitopsis officinalis* (Vill.) Bond, et Sing), хранящегося в коллекции ФНИЦ Биоразнообразия ДВО РАН (гербарий VLA M20673). Гриб паразитировал на стволе лиственницы даурской (*Larix dahurica* (Rupr.) Rupr.), Еврейская автономная область, заповедник «Бастак».

В качестве тест-культур использовали грамотрицательные (5 штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* (282, 512, 907, 3515, 2781), 1 штамм *Escherichia coli* ATCC 25922, 1 штамм *Salmonella typhimurium* LT2) и грамположительные бактерии (4 штамма *Listeria monocytogenes* (10CN, 74-T, 2755, 5105), 2 штамма *Staphylococcus aureus* (ATCC29213, ATCC43300), 1 штамм *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853).

Подготовка экстракта. Плодовое тело *L. officinalis* нарезали на мелкие кусочки, сушили при 40–50°C в течение 48 ч и измельчали в порошок. Двести граммов такого порошка экстрагировали петролейным эфиром, затем экстрагировали этанолом в течение 8–10 ч с использованием аппарата Сокслета (Китай). Растворители полностью выпаривали при 40°C с использованием роторного вакуумного испарителя (Harga, Китай). Полученные таким образом остатки (8 г) были обозначены как этанольный экстракт. Экстракты растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) (ПанЭко, Россия) в разных концентрациях (от 30 мг до 800 мг) и использовали для экспериментов.

Антибактериальную активность определяли диско-диффузионным методом [25] с дисками, которые были пропитаны этанольным экстрактом в разной концентрации. Для определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) применяли питательную среду АГВ (Биотехновация, Россия). В качестве стандартных контрольных препаратов (препарат сравнения) использовали антибиотики гентамицин и цефалексин в виде стандартных бумажных дисков (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Россия). Растворитель (водный ДМСО 5%) использовали в качестве отрицательного контроля.

Учёт результатов проводили путём измерения диаметра зон подавления роста тест-культуры микроорганизмов миллиметровой линейкой. Полученные результаты интерпретировали следующим образом: «0» — активности нет; до 12 мм — слабая чувствительность; от 13 до 29 мм — средняя чувствительность; 30 мм и более — высокая чувствительность [26].

Полученные результаты обработаны общепринятыми статистическими методами [27].

Результаты и обсуждение

Проведённые нами исследования установили антибактериальную активность этанольного экстракта плодового тела *L. officinalis*, который продемонстрировал заметную активность в отношении большинства бактериальных штаммов, взятых в эксперимент. Чувствительность бактерий к этанольному экстракту варьировала в зависимости от вида бактерий и концентрации ве-

Определение чувствительности микроорганизмов к этанольному экстракту базидиального гриба *L. officinalis* и антимикробным препаратам

Determination of microorganisms' sensitivity to the ethanol extract of the basidiomycete *L. officinalis* and antimicrobials

Культура микроорганизма	Зоны задержки роста, мм							
	концентрация этанольного экстракта, мг						антимикробные препараты	
	30	50	100	300	500	800	гентамицин	цефалексин
<i>Y.pseudotuberculosis</i> шт. 282	0	9	21	24	30	32	20	21
<i>Y.pseudotuberculosis</i> шт. 512	0	15	20	22	30	34	18	24
<i>Y.pseudotuberculosis</i> 907	0	7	20	22	31	36	16	12
<i>Y.pseudotuberculosis</i> 3515	0	5	20	23	30	29	17	15
<i>Y.pseudotuberculosis</i> 2781	0	4	20	23	29	29	16	12
<i>L.monocytogenes</i> 10 CN	0	0	10	14	12	12	20	21
<i>L.monocytogenes</i> 74 — T	0	0	5	10	6	7	19	20
<i>L.monocytogenes</i> 2755	0	0	10	10	13	6	20	18
<i>L.monocytogenes</i> 5105	0	0	8	10	8	13	20	18
<i>E.coli</i> ATCC 25922	0	5	13	16	19	24	22	12
<i>Raehrogenosa</i> ATCC27853	0	4	18	20	25	22	17	20
<i>S.aureus</i> ATCC29213	0	0	5	10	12	14	15	19
<i>S.aureus</i> ATCC43300	0	0	8	9	13	12	14	17
<i>S.typhimurium</i> LT-2	0	0	16	22	26	29	16	21

щества. При этом минимальная подавляющая концентрация составила 50 мг. (таблица).

Проведённые исследования показали, что этанольный экстракт *L. officinalis* в концентрации 500 и 800 мг проявлял высокую активность против грамотрицательных *Y.pseudotuberculosis*. Диаметр зоны торможения роста в этих случаях составил 29–31 мм и 29–36 мм, соответственно, в зависимости от штамма бактерии. Антибактериальный эффект тестируемого вещества в концентрациях 100–800 мг сопоставим с действием общепринятых антибиотиков и, в некоторых случаях, превышает его.

Для грамотрицательных *E.coli*, *Raehrogenosa*, *S.typhimurium* отмечена средняя чувствительность к этаноловому экстракту лиственничной губки. Наибольшая зона задержки роста выявлена у *Raehrogenosa* (25 мм) при концентрации тестируемого вещества 500 мг.

Установлено, что грамположительные *L.monocytogenes* и *S.aureus* оказались слабочувствительны к этанольному экстракту из плодового тела лиственничной губки. Минимальная подавляющая доза для этих бактерий составила 100 мг. Максимальная зона задержки роста (14 мм) отмечена для *L.monocytogenes* 10CN при концентрации испытуемого вещества 300 мг. Такая же зона задержки роста (14 мм) отмечена и для *S.aureus* обоих штаммов, но при этом концентрация вещества была значительно больше — 800 мг.

Заключение

Этанольный экстракт базидиального гриба *Laricifomes officinalis* проявляет выраженную антибактериальную активность в отношении *Y.pseudotuberculosis*, умеренную в отношении *E.coli*, *Raehrogenosa*, *S.aureus* и *S.typhimurium* и не активен в отношении *L.monocytogenes*. Введение в медицинскую практику этанольного экстракта из плодового тела *L. officinalis* расширит возможности терапии инфекций, вызванных *Y.pseudotuberculosis*. Необходимы дальнейшие исследования механизмов антибактериального действия компонентов этанольного экстракта плодового тела лиственничной губки, что позволит в дальнейшем создать эффективные лекарственные препараты на их основе.

Дополнительная информация
Участие авторов. Сидоренко М. Л. — дизайн и проведение исследования, написание и редактирование публикации, статистическая обработка; Сидоренко В. А. — проведение исследования, статистическая обработка, редактирование публикации.
Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 121031000134-6).
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Additional information

Contribution. Sidorenko M. L. — research design and management, publication writing and editing, statistical processing management; Sidorenko V. A. — research management, statistical processing management, publication editing.

Acknowledgments. The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (theme No. 121031000134-6).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. Kahrstrom C.T. Antimicrobials: persisters come under fire. *Nat Rev Microbiol.* 2014; 12 (3). doi: 10.1038/nrmicro3181.
2. Kint C.I., Verstraeten N., Fauvart M., Michiels J. New-found fundamentals of bacterial persistence. *Trends Microbiol.* 2012; 20 (12): 577–585. doi: 10.1016/j.tim.2012.08.009.
3. Verstraeten N., Knapen W., Fauvart M., Michiels J. A historical perspective on bacterial persistence. In J.Michiels, M.Fauvart (eds.). *Bacterial Persistence: Methods in Molecular Biology*. New York: Humana Press. 2016; 1333. doi: 10.1007/978-1-4939-2854-5_1.
4. Основы микологии: Морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов: Учебное пособие. Л. В.Гарибова, С. Н.Леконцева: КМК: 2005; 220. [Osnovy mikologii: Morfologiya i sistematika gribov i gribopodobnyh organizmov: Uchebnoe posobie. L.V. Garibova, S. N. Lekomceva KMK, 2005; 220. (in Russian)]
5. Cho S.M., Yu S.H., Shin G.C. Biological activities of culture broth of some wood rotting basidiomycetes. *Antimicrobial, plant growth regulatory, nitumor, and enzymatic activities.* *Korean J Mycol.* 1996; 24:17–24.
6. Ikekawa T., Naknishi M., Uehara N., Chihara G., Fukuoka F. Antitumor action of some basidiomycetes especially, *Phellinus linteus*. *Gan to Kagaku Ryoho.* 1968; 59: 155–157. doi: 10.20772/cancersci1959.59.2_155.
7. Shiao M.S., Lee K.K., Lin L.J., Wang C.T. Natural products and biological activities of the Chinese medicinal fungus *Ganoderma lucidum*. In *Food Photochemicals for Cancer Prevention II*. American Chem Society, Washington DC, 1994; 35: 342–354. doi: 10.1021/bk-1994-0547.ch035.
8. Chavez E., Chavez R., Carrasco N. The effect of agaric acid on citrate transport in rat liver mitochondria. *Life Sciences.* 1978; 23 (14): 1423–1429. doi: 10.1016/0024-3205(78)90123-6.
9. Garcia N., Zazueta C., Pavon N., Chavez E. Agaric acid induces mitochondrial permeability transition through its interaction with the adenine nucleotide translocase. Its dependence on membrane fluidity. *Mitochondrion.* 2005; 5 (4): 272–281. doi: 10.1016/j.mito.2005.05.002.
10. Wasser S.P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2002; 60: 258–274. doi: 10.1007/s00253-002-1076-7.
11. Pegler D.R. Useful Fungi of the World: Agaricum — the 'universal remedy' of ancient Rome. *Mycologist.* 2000;14 (4): 146–147. doi: 10.1016/S0269-915X(00)80027-0.
12. Chen Z., Wu P., Xue J., Wei X. Triterpenes from the mycelial cultures of two *Polyporus* strains. *Redai Yaredai Zhiwu Xuebao.* 2005; 13: 399–402.
13. Taofiq O., Heleno S.A., Calhella R.C., Alves M.J., Barros L., Barreiro M.F. et al. Development of mushroom-based cosmeceutical formulations with anti-inflammatory, anti-tyrosinase, antioxidant, and antibacterial properties. *Molecules.* 2016; 21; 1372. doi: 10.3390/моллекулы21101372.
14. Wu X., Yang J., Dong Y. Chemical constituents of *Fomes officinalis* (I). *Zhongcaoyao.* 2005; 36; 811–814.
15. Grienke U., Zöll M., Peintner U., Rollinger J.M. European medicinal polypores — A modern view on traditional uses. *Journal of Ethnopharmacology.* 2014; 154 (3): 564–583. doi: https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.04.030.
16. Ооржак У.С. Биологическая активность экстрактов *Fomitopsis officinalis*. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2018; 20 (2): 130–135. [Oorzhak U.S. Biologicheskaya aktivnost' ekstraktov *Fomitopsis officinalis*. Izvestiya Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj Akademii Nauk. 2018; 20 (2): 130–135. (in Russian)]
17. Girometta C. Antimicrobial properties of *Fomitopsis officinalis* in the light of its bioactive metabolites: a review. *Mycology.* 2019; 10 (1): 32–39. doi: 10.1080/21501203.2018.1536680.
18. Hwang C.H., Jaki B.U., Klein L.L., Lankin D.C., McAlpine J.B., Napolitano J.G. et al. Chlorinated coumarins from the polypore mushroom *Fomitopsis*

- officinalis* and their activity against *Mycobacterium tuberculosis*. *J Nat Prod.* 2013; 76 (10): 1916–1922. doi: 10.1021/np400497f.
19. Сидоренко М.Л., Бузолева Л.С. Поиск новых видов сырья для получения антибактериальных препаратов. *Антибиотики и химиотер.* 2012; 57: 5–6. [Sidorenko M.L., Buzoleva L.S. Search for new types of raw materials for antibacterial drugs. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2012; 57: 5–6. (in Russian)]
20. Патент РФ на изобретение № 2375439/ 10.12.09. Бюл. №34. Сидоренко М.Л., Бузолева Л.С., Ефремова Н.Ю., Булах Е.М. Штамм базидиального гриба *Fomitopsis officinalis*, проявляющий антибактериальную активность в отношении бактерий *Yersinia pseudotuberculosis*. Доступно по: https://new.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet. Ссылка активна на 26.05.2022. [Patent RUS № 2375439/ 10.12.09. Byul. №34. Sidorenko M.L., Buzoleva L.S., Efremova N.Y., Bulah E.M. Shtamm bazidial'nogo griba *Fomitopsis officinalis*, proyavlyayushchij antibakterial'nyu aktivnost' v otnoshenii bakterij *Yersinia pseudotuberculosis*. Dostupno po: https://new.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet. Ssylka aktivna na 26.05.2022. (in Russian)]
21. Airapetova A.Y., Gavrilin M.V., Dmitriev A.B., Mezenova T.D. Examination of the structure of agaricinic acid using ¹H and ¹³C NMR spectroscopy. *Pharm Chem J.* 2010; 44 (9): 510–513. doi: 10.1007/s11094-010-0505-7.
22. Сергеева Е.Ю., Айрапетова А.Ю., Айрапетова К.А. Изучение антиоксидантной активности агаричиновой кислоты. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук.* 2010; 12 (1–8): 2097–2099. [Sergeeva E.Y., Ajrapetova A.Y., Ajrapetova K.A. Izuchenie antioksidantnoj aktivnosti agaricinovoj kisloty. *Izvestiya Samarskogo Nauchnogo Centra Rossijskoj Akademii Nauk.* 2010; 12 (1–8); 2097–2099. (in Russian)]
23. Патент РФ на изобретение № 2708034/ 03.12.19. Бюл. №34. Сидоренко М.Л., Дмитренко П.С., Горбач В.И. Способ получения агаричиновой кислоты из мицелия трутовика лекарственного. Доступно по: <https://new.fips.ru/iiss/document.xhtml?faces-redirect=true&id=596c1adc4951eb07c2fe48fd5bb5a925>. Ссылка активна на 26.05.2022. [Patent RUS № 2708034/ 03.12.19. Byul. №34. Sidorenko M.L., Dmitrenok P.S., Gorbach V.I. Sposob polucheniya agaricinovoj kisloty iz miceliya trutovika lekarstvennogo. Dostupno po: <https://new.fips.ru/iiss/document.xhtml?faces-redirect=true&id=596c1adc4951eb07c2fe48fd5bb5a925>. Ssylka aktivna na 26.05.2022. (in Russian)]
24. Цуканова П.А. Исследование химического состава и стандартизация сырья лиственничной губки: Дис. ... канд. фарм. наук. *Пятигорск:* 2009. Доступно по: <https://www.dissercat.com/content/issledovanie-khimicheskogo-sostava-i-standartizatsiya-syr'ya-listvennichnoi-gubki>. Ссылка активна на 26.05.2022. [Cukanova P.A. Issledovanie himicheskogo sostavi i standartizaciya syr'ya listvennichnoj gubki. [dissertation] Pyatigorsk: 2009. Dostupno po: <https://www.dissercat.com/content/issledovanie-khimicheskogo-sostava-i-standartizatsiya-syr'ya-listvennichnoi-gubki>. Ssylka aktivna na 26.05.2022. (in Russian)]
25. Семина Н.А., Сидоренко С.В., Резван С.П. и др. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2004; 6 (4): 306–359. [Syomina N.A., Sidorenko S.V., Rezvan S.P. et al. Determination of sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs. *Clinical Microbiology and Antibacterial Chemotherapy.* 2004; 6 (4): 306–359. (in Russian)]
26. Основы учения об антибиотиках. Н.С.Егоров М.: Наука, 2004; 528. [Osnovy ucheniya ob antibiotikah. N.S.Egorov (ed.). Moscow: Nauka, 2004; 528. (in Russian)]
27. Применение статистических методов в эпидемиологическом анализе. Е.Д.Савилов, Л.Д.Мамонтова, В.А. Астафьевы др. М.: МЕДпресс-информ, 2004; 112. [Primenenie statisticheskikh metodov v epidemiologicheskom analize. E.D.Savilov, L.D.Mamontova, V. A.Astafyev et al. (eds.). Moscow: MEDpress-inform, 2004; 112. (in Russian)]

Информация об авторах

Сидоренко Марина Леонидовна — к. б. н., ведущий научный сотрудник Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук Владивосток, Россия. ORCID ID: 0000-0002-4035-8395. WoS Researcher ID: P-2680-2016. Scopus Author ID: 7003616893

Сидоренко Владислав Анатольевич — аспирант, ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток, Россия. ORCID ID: 0000-0001-6483-1987

About the authors

Marina L. Sidorenko — Ph. D. in Biology, Leading Researcher, Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia. ORCID ID: 0000-0002-4035-8395. WoS Researcher ID: P-2680-2016. Scopus Author ID: 7003616893

Vladislav A. Sidorenko — Graduate Student, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia. ORCID ID: 0000-0001-6483-1987

Чувствительность плесневых грибов *Aspergillus niger* к новым синтетическим аналогам природных изокумариновых антибиотиков

В. Т. АБАЕВ^{1,2}, Г. С. КАЧМАЗОВ¹, *А. В. ГУТНОВ¹, А. Ю. ТУАЕВА³, П. М. ШПУНТОВ⁴

¹ Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова, Владикавказ, Россия

² Северо-Кавказский Федеральный университет, Ставрополь, Россия

³ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

⁴ Кубанский Государственный Технологический Университет, Краснодар, Россия

Sensitivity of Fungal Microbe *Aspergillus niger* to New Synthetic Analogs of Natural Isocoumarin Antibiotics

VLADIMIR T. ABAEV^{1,2}, GENNADY S. KACHMAZOV¹, *ANDREY V. GUTNOV¹,
ALBINA Y. TUAIEVA³, PAVEL M. SHPUNTOV⁴

¹ K. L. Khetagurov North Ossetian State University, Vladikavkaz, Russia

² North Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

³ National Research Center «Kurchatov Institute», Moscow, Russia

⁴ Kuban State Technological University, Krasnodar, Russia

Резюме

Определена чувствительность полевых культур плесневых грибов *Aspergillus niger* к новым синтетическим аналогам природных противогрибковых антибиотиков ряда изокумаринов в сравнении с антимикотической активностью известных препаратов. Регистрировали минимальную микоцидную концентрацию (ММЦК) и минимальную микостатическую концентрацию (ММСК) препаратов. Ингибирующий эффект (ИЭ) выражался отношением среднего диаметра колоний опытных проб к среднему диаметру колоний контрольных проб. Из результатов, приведённых в настоящей работе, следует, что исследованные полевые культуры *A. niger* наиболее чувствительны к антимикотическим препаратам, относящимся к производным N-метилнафтилметиламина и полиеновым антимикотикам — тербинафину (ММЦК = 0–2 мкг/см³) и нистатину (ММЦК = 4–8 мкг/см³, ИЭ-K1 = 1,69, ИЭ-K2 = 1,51), которые оказывают выраженное микоцидное действие. Другие исследованные препараты, в том числе и синтезированные аналоги природных изокумаринов оказывали на культуры плесневых грибов *A. niger* лишь микостатическое действие: флуконазол — ММСК = >64 мкг/см³, ИЭ-K1 = 3,38, ИЭ-K2 = 2,52; гризеофульвин — ММСК = >64 мкг/см³, ИЭ-K1 = 1,79, ИЭ-K2 = 1,53; 3-(3-оксобутил)-изокумарин — ММСК = >64 мкг/см³, ИЭ-K1 = 1,27, ИЭ-K2 = 1,07; 7-флуоро-3-(оксобутил)-1-N-изохромен-1-он — ММСК = >64 мкг/см³, ИЭ-K1 = 1,28, ИЭ-K2 = 1,03; (Е)-3-(3-оксобутил-1-ен-1-ил)-1-N-изохромен-1-он — ММСК = >64 мкг/см³, ИЭ-K1 = 1,12, ИЭ-K2 = 1,06; 3-(3,3-дифторбутил)-1-N-изохромен-1-он — ММСК = >64 мкг/см³, ИЭ-K1 = 1,34, ИЭ-K2 = 1,25.

Ключевые слова: плесневые грибы; *Aspergillus niger*; антибиотики; изокумарины; тербинафин; нистатин

Для цитирования: Абаев В.Т., Качмазов Г.С., Гутнов А.В., Туаева А.Ю., Шпунтов П.М. Чувствительность плесневых грибов *Aspergillus niger* к новым синтетическим аналогам природных изокумариновых антибиотиков. *Антибиотики и химиотер.* 2023; 68 (11–12): 23–29. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-23-29>.

Abstract

The sensitivity of field cultures of fungal microbe *Aspergillus niger* to new synthetic analogs of natural antifungal antibiotics of the isocoumarin class was determined in comparison with antimycotic activity of known drugs. The minimal mycocidal concentration (MMCC) and minimal mycostatic concentration (MMSC) of the drugs were documented. The inhibitory effect (IE) was expressed as the ratio of the average colony diameter of experimental samples to the average colony diameter of control samples. From the results presented in the present work, it follows that the investigated field cultures of *Aspergillus niger* are most sensitive to antimycotic drugs belonging to N-methylnaphthylmethylamine derivatives and polyene antimycotics — terbinafine (MMSC = 0–2 µg/cm³) and nystatin (MMSC = 4–8 µg/cm³, IE-K1 = 1.69, IE-K2 = 1.51), which have a pronounced mycocidal effect. Other studied preparations, including synthesized analogues of natural isocoumarins, showed only mycostatic effect on cultures of fungal microbe *Aspergillus niger*: fluconazole — MMSC = more than 64 µg/cm³, IE-K1 = 3.38, IE-K2 = 2.52; griseofulvin — MMSC = more than 64 µg/cm³, IE-K1 = 1.79, IE-K2 = 1.53; 3-(3-oxobutyl)-isocoumarin — MMSC = more than 64 µg/cm³, IE-K1 = 1.27, IE-K2 = 1.07; 7-fluoro-3-(oxobutyl)-1-N-isochromene-1-one — MMSC = greater than 64 µg/cm³, IE-K1 = 1.28, IE-K2 = 1.03; (E)-3-(3-oxobutyl-1-en-1-yl)-1-N-isochromene-1-one — MMSC = greater than 64 µg/cm³, IE-K1 = 1.12, IE-K2 = 1.06; 3-(3,3-difluorobutyl)-1-N-iso-chromene-1-one — MMSC = greater than 64 µg/cm³, IE-K1 = 1.34, IE-K2 = 1.25.

Введение

В ходе постоянно происходящих в природе преобразований и во многих процессах человеческой деятельности грибы играют значительную роль. Кроме их крайне важного влияния на многие природные процессы, следует признать, что в порче продуктов питания, на всех этапах производства, грибы занимают доминирующее положение [1, 2]. Хлеб, в этом смысле, не является исключением [3]. Плесневение является наиболее распространённым видом порчи хлеба и возникает при неправильном режиме хранения. Споры плесеней, попавшие на готовый хлеб, быстро развиваются, особенно при повышенной влажности и температуре. Принято считать, что развитие плесеней начинается с поверхности хлеба, а затем через трещины в корке проникают в мякиш. Основным мероприятием на специализированных предприятиях, обеспечивающим высокое качество хлеба, является строгое соблюдение установленного технологического режима производства и санитарно-гигиенических требований. Вместе с тем, для борьбы с плесневением хлеба могут быть использованы и другие методы: обработка поверхности хлеба или упаковочного материала химическими консервантами (этиловым спиртом, солями пропионовой и сорбиновой кислот); стерилизация упакованного хлеба токами высокой частоты; хороший эффект отмечают при замораживании хлеба.

Плесневение хлеба чаще всего вызывают грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* и *Alternaria*, что не исключает присутствия представителей других таксономических групп. Как следствие гидролиза крахмала и белков, под воздействием плесневых экзоферментов, хлеб приобретает неприятный затхлый запах и вкус. Однако особого внимания заслуживает тот факт, что заплесневелый хлеб непригоден в пищу, ввиду интенсивного образования грибами микотоксинов и афлатоксинов, которые концентрируются не только в наружных слоях хлеба, но и в

значимых количествах диффундируют в глубокие слои мякиша. При этих обстоятельствах плесневение хлеба и других продуктов питания, следует рассматривать не только с экономической, но с медико-биологической точки зрения, как вероятные источники возбудителей микозов и микотоксикозов человека.

Огромный экономический и медико-биологический ущерб, причиняемый плесневыми грибами, объясняет растущий интерес к разработке и внедрению в практику противогрибковых агентов новых структурных типов и механизмов действия [4, 5].

Природные изокумарины являются известными биологически-активными веществами, проявляющими выраженную антимикробную, цитотоксическую, антиоксидантную, противовоспалительную, антимикобактериальную, антиплазмодийную, противовирусную и инсектицидную активность [6]. В частности, группа природных изокумаринов, названная бутилизокумаринами, была выделена из эстрагона (*Artemisia dracunculus*) [7]. Отличительной особенностью этой группы соединений является наличие четырёхуглеродного заместителя в третьем положении изокумаринового цикла. На рис. 1 представлены типичные представители этой группы, которые, как оказалось, обладают ярко выраженными противогрибковыми свойствами против грибка *Pyricularia grisea*, поражающего рис и другие однодольные, и вызывающего до 30% потери урожайности риса в мире. Полученные соотношения структура–активность показали, что чем менее полярен бутильный заместитель в изокумарине, тем сильнее выражены противогрибковые свойства. Например, корфин II показал значительно большую активность, чем артемидиол IV.

Ранее на кафедре органической химии ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный университет им. К. Л. Хетагурова» был разработан оригинальный метод получения 3-(3-оксобутил)изокумаринов и его химических аналогов, родственных

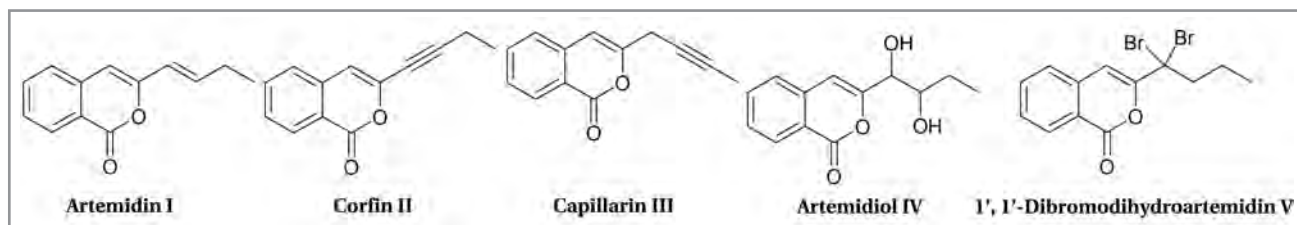


Рис. 1. Представители природных бутилизокумаринов
Fig. 1. Representatives of natural butyl isocoumarins

природным бутилизокумаринам [8]. Так как противогрибковые свойства этого класса кетонов не были известны, целью нашего исследования стало определение чувствительности полевых культур плесневых грибов *Aspergillus* к антимикотическим препаратам разных групп и сравнение с противогрибковой активностью полученных производных бутилизокумарина.

Материал и методы

Плесневые грибы были выделены из 25 образцов пшеничного хлеба, произведённого различными хлебопекарными предприятиями города Владикавказа.

По макро- и микро-морфологическим свойствам 20 штаммов отнесены к роду *Aspergillus* [9–11]. Исследование чистых культур позволило 9 из них идентифицировать как *Aspergillus niger* (рис. 2). В эксперимент по определению устойчивости к антимикотическим препаратам произвольно выбрано 5 из 9 идентифицированных.

Группа контрольных препаратов, исследованная на антимикотическую активность, включала:

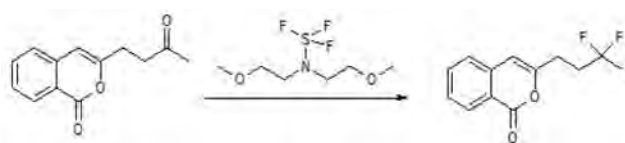
- нистатин — относится к полиеновым антимикотикам;
- флуконазол — относится к производным 1,2,4-триазола;
- тербинафин — относится к производным N-метил-нафтилметиламина;
- гризефульвин — относится к производным бензофурана.

Из приведённых характеристик следует, что включённые в эксперимент фармацевтические препараты относились к различным химическим группам.

Результаты и обсуждение

В эксперименте были представлены следующие впервые синтезированные вещества родственные природным бутилизокумаринам (рис. 3).

3-(3,3-Дифторбутил)-1-Н-изохромен-1-он был получен деоксифторированием известного 3-(3-оксобутил)-изокумарина реагентом Deoxo-Fluor по реакции:



Синтез 3-(3,3-Дифторбутил)-1-Н-изохромен-1-она. 3-(3-Оксобутил)-изокумарин (0,65 г,

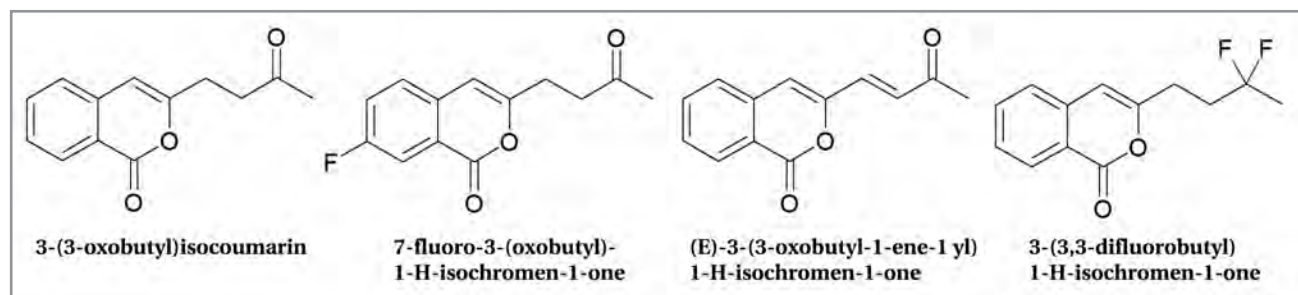


Рис. 3. Синтезированные вещества

Fig. 3. Synthesized substances

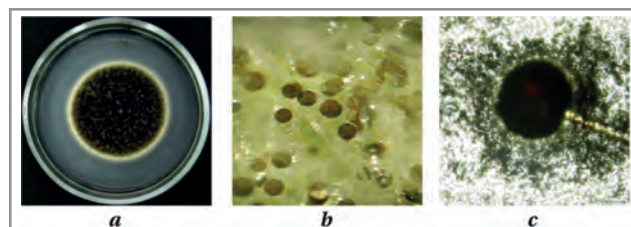


Рис. 2. Культурально-морфологические свойства выделенных штаммов *Aspergillus niger*.

a — макро; b — ×80; c — ×400.

Fig. 2. Cultural and morphological properties of the isolated *Aspergillus niger* strains:

a — macro; b — ×80; c — ×400.

3 ммоль) суспендировали в 3 мл толуола, смесь помещали в трубку высокого давления с тефлоновым затвором, и добавляли 50% раствор Deoxo-Fluor в толуоле (4 г, 9 ммоль) и этанол (10 мкл). Реакция нагревалась при 100°C в течение 6 ч. После завершения трубку охладили до комнатной температуры и открыли. Реакция была промыта водой (2×10 мл), органический слой отделён и упарен, сырой продукт в остатке очищен хроматографией на силикагеле в системе петролейный эфир — этилацетат 9:1 (R_f продукта 0,7). Чистые фракции объединяли, упаривали и остаток перекристаллизовывали из смеси петролейный эфир — этилацетат. Полученный кристаллический продукт отфильтровывали и промывали петролейным эфиром. Выход 0,43 г (60% от теории). Т. пл. 54–55°C. ¹H-ЯМР: (400 MHz, CDCl₃) δ 8,26 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,70 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 7,48 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 7,38 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,34 (s, 1H), 2,76 (dd, J = 9,6, 6,6 Hz, 2H), 2,29 (qd, J = 16,1, 8,1 Hz, 2H), 1,67 (t, J = 18,4 Hz, 3H). ¹³C-ЯМР: (101 MHz, CDCl₃) δ 162,75 (s), 156,00 (s), 137,28 (s), 134,91 (s), 129,57 (s), 127,97 (s), 125,22 (s), 123,32 (t, J = 477,41 Hz), 120,17 (s), 103,59 (s), 32,20 (m), 35,27 (t, J = 25,8 Hz), 26,88 (t, J = 5,2 Hz), 23,64 (t, J = 27,5 Hz). HRMS: C₁₃H₁₂F₂O₂Na calcd. 261.070306; m/z [M+Na]⁺ found 261.0698.

Антимикотическое действие определяли в серии двукратных разведений препаратов по степени ингибирования линейных размеров колоний (мм) через 7 дней инкубации в чашках Петри на картофельно-сахарозном агаре при температуре 25°C.

При этом регистрировали минимальную микоцидную концентрацию (ММЦК) и минимальную микостатическую концентрацию (ММСК) препаратов.

Навески препаратов готовились с учётом количества активного вещества в лекарственной форме (капсула, таблетка). Для удобства и точности взвешивания фармацевтические препараты и производные бутилизокumarина тщательно растирали в фарфоровой ступе и перемешивали с химически и биологически инертной массой балластного вещества, в качестве которого использовали диатомит (кизельгур) в соотношении 1:10 к массе действующего вещества (с учётом массы вспомогательных веществ в лекарственной форме). Навески, соответствующие 2, 4, 8, 16, 32 и 64 мкг/см³, смывали 3 см³ 70% этилового спирта, чем обеспечивали стерильность и равномерность распределения в питательной среде. Одна из контрольных проб (K1) представляла собой картофельно-сахарозный агар без каких-либо дополнительных веществ. Для учёта возможного ингибирующего влияния спирта готовился второй контроль (K2), который включал 3 см³ 70% этилового спирта и максимальную навеску балластного вещества.

Автоклавированный при 1,0 атм в течение 20 мин картофельно-сахарозный агар остужали до 45–50°C, вносили в него соответствующую навеску подготовленного препарата, тщательно перемешивали и разливали в чашки Петри. Застывшие среды подсушивали в течение 90–120 мин. Инокулят отбирали уколом бактериологической иглой с периферических участков колонии предварительно подготовленной чистой культуры и также уколом переносили в центр стерильной чашки.

В результате проведённых исследований получены результаты, представленные в таблице.

Спирт, использованный в качестве растворителя и дезинфицирующего вещества, оказывал на плесневые культуры *A. niger* незначительный подавляющий эффект (K1/K2), который, в среднем, во всех экспериментальных пробах составил 1,16.

Наиболее выраженный антимикотический эффект отмечен у тербинафина (рис. 4), ММЦК которого зарегистрирована в интервале разведений до 2 мкг/см³. В первом контроле K1 средний диаметр колоний равнялся 87,30 мм. В контроле со спиртом K2 — 77,44 мм. На чашках Петри, картофельно-сахарозный агар которых содержал 2 мкг/см³ препарата, рост *A. niger* не регистрировался.

Кроме тербинафина, микоцидный эффект отмечен и у нистатина, но ММЦК его зарегистрирована в интервале разведений 4–8 мкг/см³ (рис. 5). В контроле K1 средний диаметр колоний равнялся 87,16 мм. В контроле со спиртом K2 — 77,94 мм. Средний диаметр колоний при концентрации 4 мкг/см³ составил 51,44 мм, следовательно, ИЭ-K1 составил 1,69, а ИЭ-K2 — 1,51. На чашках,

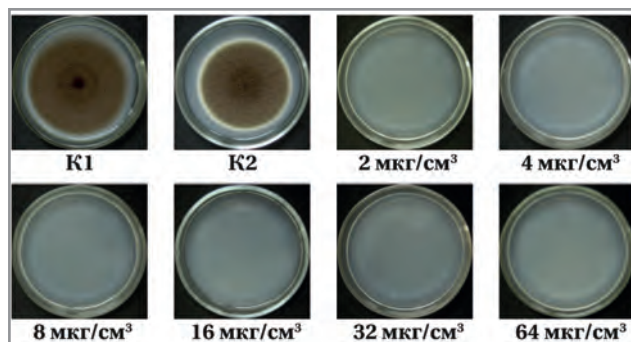


Рис. 4. Рост *Aspergillus niger* на картофельно-сахарозном агаре с тербинафином.

Fig. 4. Growth of *Aspergillus niger* on potato sucrose agar with terbinafine.

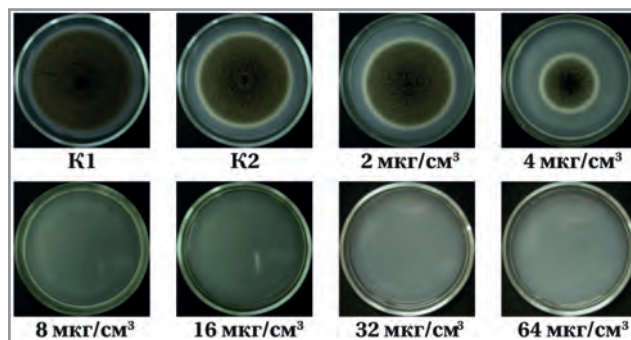


Рис. 5. Рост *Aspergillus niger* на картофельно-сахарозном агаре с нистатином.

Fig. 5. Growth of *Aspergillus niger* on potato sucrose agar with nystatin.

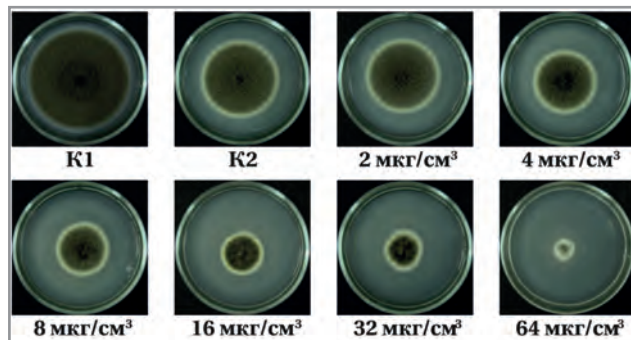


Рис. 6. Рост *Aspergillus niger* на картофельно-сахарозном агаре с флуконазолом.

Fig. 6. Growth of *Aspergillus niger* on potato sucrose agar with fluconazole.

агар которых содержал 8 мкг/см³ препарата, рост *A. niger* уже не регистрировался.

Другие исследованные препараты не проявили микоцидной активности в концентрациях от 2 до 64 мкг/см³, но в разной степени оказывали микостатический эффект.

Наиболее выраженная микостатическая активность зарегистрирована в чашках Петри с флуконазолом (рис. 6). В контроле K1 средний диаметр колоний равнялся 85,54 мм, в контроле K2 — 63,84 мм. При концентрации препарата 64 мкг/см³

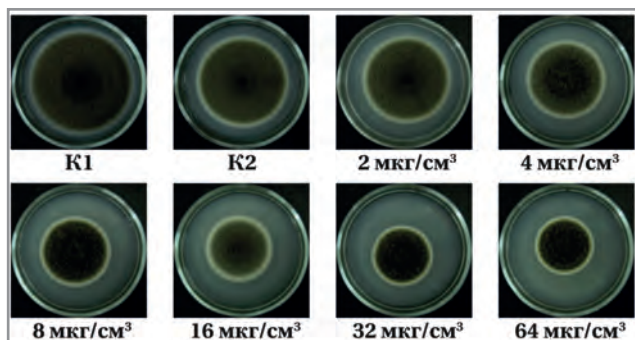


Рис. 7. Рост *Aspergillus niger* на картофельно-сахарозном агаре с гризефульвином.

Fig. 7. Growth of *Aspergillus niger* on potato sucrose agar with griseofulvin.

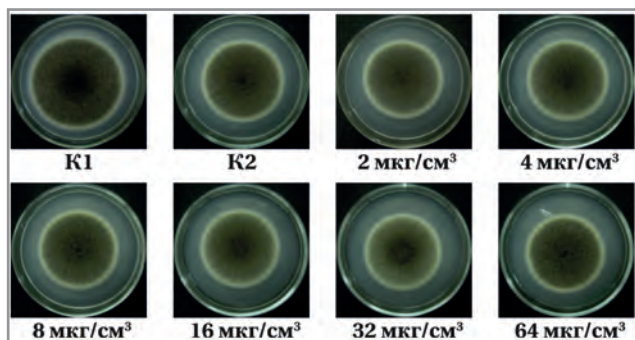


Рис. 8. Рост *Aspergillus niger* на картофельно-сахарозном агаре с 3-(3-оксобутил)изокумарином.

Fig. 8. Growth of *Aspergillus niger* on potato sucrose agar with 3-(3-oxobutyl)isocoumarin.

средний диаметр колоний составил 25,3 мм. Следовательно, при максимальной концентрации препарата ИЭ-К1 составил 3,38, а ИЭ-К2 — 2,52.

Исследования антимикотической активности гризефульвина, также позволили выявить только микостатический эффект (рис. 7). В контроле К1 средний диаметр колоний равнялся 84,88 мм, а в контроле К2 — 72,46 мм. При концентрации препарата 64 мкг/см³ средний диаметр колоний составил 47,24 мм. Следовательно, при максимальной концентрации гризефульвина ИЭ-К1 составил 1,79, а ИЭ-К2 — 1,53.

Исследование антимикотической активности четырёх впервые синтезированных аналогов природных изокумаринов показало, что ни один из них не оказывает микоцидного действия на полевые культуры *A. niger*. В результате эксперимента выявлен заметный микостатический эффект, который однако не превышает эффективности коммерческих препаратов.

В эксперименте с 3-(3-оксобутил)-изокумарином (рис. 8) в контрольных К1 чашках Петри средний диаметр колоний равнялся 77,24 мм, а в контроле К2 — 65,5 мм. При концентрации препарата 64 мкг/см³ средний диаметр колоний составил 60,76 мм. Следовательно, при максималь-

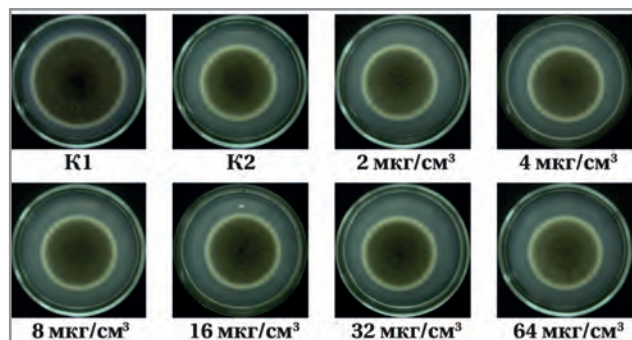


Рис. 9. Рост *Aspergillus niger* на картофельно-сахарозном агаре с 7-флуоро-3-(оксобутил)-1-Н-изохромен-1-оном.

Fig. 9. Growth of *Aspergillus niger* on potato sucrose agar with 7-fluoro-3-(oxobutyl)-1-H-isochromen-1-one.

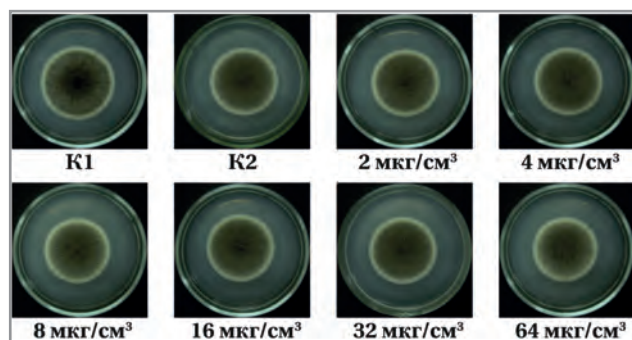


Рис. 10. Рост *Aspergillus niger* на картофельно-сахарозном агаре с (Е)-3-(3-оксобутил-1-ен-1-ил)-1-Н-изохромен-1-оном.

Fig. 10. Growth of *Aspergillus niger* on potato sucrose agar with (E)-3-(3-oxobutyl-1-en-1-yl)-1-H-isochromen-1-one.

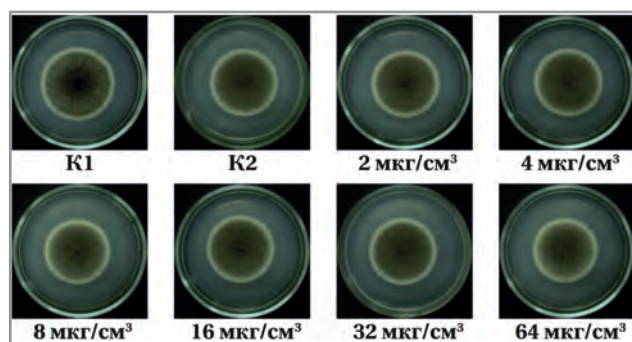


Рис. 11. Рост *Aspergillus niger* на картофельно-сахарозном агаре с 3-(3,3-дифторбутил)-1-Н-изохромен-1-оном.

Fig. 11. Growth of *Aspergillus niger* on potato sucrose agar with 3-(3,3-difluorobutyl)-1-H-isochromen-1-one.

ной концентрации препарата ИЭ-К1 составил 1,27, а ИЭ-К2 — 1,07.

Исследование антимикотического действия вещества 7-флуоро-3-(оксобутил)-1-Н-изохромен-1-он показало, что в контрольных К1 чашках Петри (рис. 9) средний диаметр колоний равнялся

Чувствительность *Aspergillus niger* к антимикотическим препаратам разных групп
Sensitivity of *Aspergillus niger* to antimycotic drugs of different groups

Препарат	Показатель действия	Доза препарата (мкг/см³)							
		K1	K2	2	4	8	16	32	64
Aspergillus niger									
Тербинафин	Ø	87,30	77,44	0	0	0	0	0	0
	ИЭ-K1		1,12	—	—	—	—	—	—
	ИЭ-K2			—	—	—	—	—	—
Нистатин	Ø	87,16	77,94	74,54	51,44	0	0	0	0
	ИЭ-K1		1,12	1,17	1,69	—	—	—	—
	ИЭ-K2			1,04	1,51	—	—	—	—
Флуконазол	Ø	85,54	63,84	59,84	50,42	33,60	31,5	30,10	25,30
	ИЭ-K1		1,34	1,43	1,69	2,54	2,71	2,84	3,38
	ИЭ-K2			1,06	1,26	1,90	2,02	2,12	2,52
Гризеофульвин	Ø	84,88	72,46	69,24	64,42	55,60	50,80	48,34	47,24
	ИЭ-K1		1,17	1,22	1,31	1,52	1,67	1,75	1,79
	ИЭ-K2			1,04	1,12	1,30	1,42	1,50	1,53
3-(3-оксобутил) изокумарин	Ø	77,24	65,50	63,12	62,98	62,56	62,46	61,34	60,76
	ИЭ-K1		1,18	1,22	1,22	1,23	1,23	1,26	1,27
	ИЭ-K2			1,03	1,04	1,04	1,05	1,06	1,07
7-флуоро-3-(оксобутил)-1-Н-изохромен-1-он	Ø	76,86	61,94	61,64	61,20	60,38	60,36	59,98	59,84
	ИЭ-K1		1,24	1,24	1,25	1,27	1,27	1,28	1,28
	ИЭ-K2			1,00	1,01	1,02	1,02	1,03	1,03
(Е)-3-(3-оксобутил-1-ен-1-ил)-1-Н-изохромен-1-он	Ø	56,84	53,62	52,86	52,72	52,66	52,44	52,02	50,56
	ИЭ-K1		1,06	1,07	1,07	1,08	1,08	1,09	1,12
	ИЭ-K2			1,01	1,01	1,01	1,02	1,03	1,06
3-(3,3-дифторбутил)-1-Н-изохромен-1-он	Ø	57,80	53,88	53,66	53,40	52,97	52,72	51,64	42,86
	ИЭ-K1		1,07	1,07	1,08	1,09	1,09	1,12	1,34
	ИЭ-K2			1,00	1,01	1,01	1,02	1,04	1,25

Примечание. Ø — средний диаметр колоний (мм); ИЭ-K1 — ингибирующий эффект — отношение среднего диаметра колоний чистых контрольных проб (K1) к среднему диаметру колоний опытных проб; ИЭ-K2 — ингибирующий эффект — отношение среднего диаметра колоний контрольных проб со спиртом (K2) к среднему диаметру колоний опытных проб.

Note. Ø — average diameter of colonies (mm); ИЭ-K1 — inhibitory effect — the ratio of the average diameter of pure control samples' (K1) colonies to the average diameter of experimental samples' colonies; ИЭ-K2 — inhibitory effect — the ratio of the average diameter of colonies of control samples with alcohol (K2) to the average diameter of experimental samples' colonies.

76,86 мм, а в контроле K2 — 61,94 мм. При концентрации препарата 64 мкг/см³ средний диаметр колоний составил 59,84 мм. Следовательно, при максимальной концентрации вещества ИЭ-K1 составил 1,28, а ИЭ-K2 — 1,03.

Действие вещества (Е)-3-(3-оксобутил-1-ен-1-ил)-1-Н-изохромен-1-он на полевые культуры *A. niger* также не показало микоцидного эффекта. В контрольных K1 чашках Петри (рис. 10) средний диаметр колоний равнялся 56,84 мм, а в контроле K2 — 53,62 мм. При концентрации препарата 64 мкг/см³ средний диаметр колоний составил 50,56 мм. Следовательно, при максимальной концентрации вещества ИЭ-K1 составил 1,12, а ИЭ-K2 — 1,06.

В эксперименте с 3-(3,3-дифторбутил)-1-Н-изохромен-1-оном (рис. 11) в контрольных K1 чашках Петри средний диаметр колоний равнялся 57,8 мм, а в контроле K2 — 53,88 мм. При концентрации препарата 64 мкг/см³ средний диаметр колоний составил 42,86 мм. Следовательно, при максимальной концентрации препарата ИЭ-K1 составил 1,34, а ИЭ-K2 — 1,25.

Заключение

Из приведённых результатов следует, что исследованные полевые культуры *A. niger* наиболее чувствительны к антимикотическим препаратам, относящимся к производным N-метилнафтилметиламина и полиеновым антимикотикам — тербинафину (ММЦК = 0–2 мкг/см³) и нистатину (ММЦК = 4 мкг/см³, ИЭ = 43,27), которые оказывают выраженное микоцидное действие. Другие исследованные препараты, в том числе и впервые синтезированные аналоги природных изокумаринов оказывали на культуры плесневых грибов *A. niger* микостатическое действие:

- флуконазол — ММСК = >64 мкг/см³, ИЭ-K1 = 3,38, ИЭ-K2 = 2,52;
- гризеофульвин — ММСК >64 мкг/см³, ИЭ-K1 = 1,79, ИЭ-K2 = 1,53;
- 3-(3-оксобутил)-изокумарин — ММСК = >4 мкг/см³, ИЭ-K1 = 1,27, ИЭ-K2 = 1,07;
- 7-флуоро-3-(оксобутил)-1-Н-изохромен-1-он — МСК = >64 мкг/см³, ИЭ-K1 = 1,28, ИЭ-K2 = 1,03;

- (Е)-3-(3-оксобутил-1-ен-1-ил)-1-Н-изохромен-1-он — ММСК = > 64 мкг/см³, ИЭ-К1 = 1,12, ИЭ-К2 = 1,06;
- 3-(3,3-дифторбутил)-1-Н-изохромен-1-он — ММСК = > 64 мкг/см³, ИЭ-К1 = 1,34, ИЭ-К2 = 1,25.

Таким образом, было показано микостатическое действие новых производных бутилизокмарина и подтверждено наше предположение об

усилении противогрибковой активности с ростом липофильности бутильного заместителя.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

Литература/References

1. Потороко И.Ю., Калинина И.В., Руськина А.А. Научные подходы в обеспечении качества и безопасности плодов и овощей в процессе хранения. Мировой опыт. Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. 2017; 1: 14–18. doi: <https://doi.org/10.14529/food170102>. [Potoroko I.Yu., Kalinina I.V., Rus'kina A.A. Nauchnye podkhody v obespechenii kachestva i bezopasnosti plodov i ovoshchej v protsesse khraneniya. Mirovoj opyt. Vestnik Jyuzhno-Ural'skogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Pishchevye i Biotekhnologii. 2017; 1: 14–18. doi: <https://doi.org/10.14529/food170102>. (in Russian)]
2. Хмелева Е.В., Бакаева А.Н. Влияние способа подготовки зерна пшеницы на показатели качества и безопасности в технологии зернового хлеба. Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». 2016; 4: 3–9. doi: <https://doi.org/10.17586/2310-1164-2016-9-4-3-9>. [Khmeleva E.V., Bakaeva A.N. Vliyanie sposoba podgotovki zerna pshenitsy na pokazateli kachestva i bezopasnosti v tekhnologii zernovogo khleba. Nauchnyj Zhurnal NIU ITMO. Seriya «Protsestry i apparaty pishchevykh proizvodstv». 2016; 4: 3–9. doi: <https://doi.org/10.17586/2310-1164-2016-9-4-3-9>. (in Russian)]
3. Пащенко Л.П., Коломникова Я.П., Аушева Т.А., Пащенко В.Л. Биотехнологические аспекты в обеспечении микробиологической чистоты пшеничного хлеба. Вестник ВГУИТ. 2012; 1: 87–89. doi: <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2012-1-87-89>. [Pashchenko L.P., Kolomnikova Ya.P., Ausheva T.A., Pashchenko V.L. Biotekhnologicheskie aspekty v obespechenii mikrobiologicheskoy chistoty pshenichnogo khleba. Vestnik VGUIT. 2012; 1: 87–89. doi: <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2012-1-87-89>. (in Russian)]
4. Сергеев Ю.В., Шпигель Б.И., Сергеев А.Ю. Фармакотерапия микозов. М.: Медицина для всех. 2003; 200. [Sergeev Yu.V., Shpigel' B.I., Sergeev A.Yu. Farmakoterapiya mikozov. M.: Meditsina dlya Vsekh. 2003; 200. (in Russian)]

Информация об авторах

Абаев Владимир Таймуразович — д. х. н., доцент, кафедра органической химии, Северо-Осетинский государственный университет им. К. Л. Хетагурова, Владикавказ; Химический факультет, Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3009-7221

Качмазов Геннадий Созырович — к. в. н., доцент, кафедра технологии пищевых продуктов, Северо-Осетинский государственный университет им. К. Л. Хетагурова, Владикавказ, Россия. ORCID ID: 0009-0007-2330-7485

Гутнов Андрей Владимирович — к. х. н., доцент, кафедра химии и биотехнологии, Северо-Осетинский государственный университет, Ставрополь, Россия. ORCID ID: 0000-0002-4492-7639

Туаева Альбина Юрьевна — аспирант, НИЦ «Курчатовский институт», Курчатовский комплекс НБИКС-Природоподобных технологий (КК НБИКС-ПТ), центр геномных исследований «Курчатовский геномный центр», лаборатория молекулярной генетики дрожжей, Москва, Россия. ORCID ID: 0009-0007-2214-0935

Шпунтов Павел Михайлович — Институт пищевой и перерабатывающей промышленности, Кубанский Государственный Технологический Университет, Краснодар, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3208-2568

5. Скрипкин Ю.К., Кулагин В.И., Леценко В.М., Иванов О.Л., Сергеев Ю.В., Сергеев А.Ю., Мокина Е.В., Царев В.Н., Трефилов А.Г., Терещенко А.В. Сравнительное изучение противогрибковой активности *in vitro* оригинального итраконазола (орунгал) и его воспроизведённых препаратов. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2004; 1: 60–65. <https://www.immunopathology.com/ru/article.php?article=327> [Skripkin Yu.K., Kulagin V.I., Leshchenko V.M., Ivanov O.L., Sergeev Yu.V., Mokina E.V., Tsarev V.N., Trefilov A.G., Tereshchenko A.V. Sravnitel'noe izuchenie protivogribkovoj aktivnosti *in vitro* original'nogo itrakonazola (orungal) i ego vosproizvedennykh preparatov. Immunopatologiya, Allergologiya, Infektologiya. 2004; 1: 60–65. <https://www.immunopathology.com/ru/article.php?article=327> (in Russian)]
6. Ahmad O.N., Diena M. A., Alaa A. B., Hossam M. A., Shaimaa G. A. M., Gamal A. M., Sabrin R. M. I. Molecules. 2020, 25 (2): 395–489. <https://doi.org/10.3390/molecules25020395>
7. Engelmeier D., Hadacek F., Hofer O., Lutz-Kutschera G., Nagl M., Wurz G., Greger H. Antifungal 3-Butylisocoumarins from Asteraceae-Anthemideae. J. Nat. Prod. 2004, 67, 19–25. <https://doi.org/10.1021/jp0301339>
8. Shpuntov P.M., Shcherbinin V. A., Abaev V. T., Butin A. V. New tandem reductive rearrangement of 3-furylphthalides into 3-(3-oxoalkyl)isocoumarins. Tetrahedron Lett. 2016, 1483–1485. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2016.02.072>
9. Дудка И.А., Вассер С.П., Элланская И.А. Методы экспериментальной микологии. Справочник. Киев: Наукова думка. 1982; 552. [Dudka I.A., Vasser S.P., Ellanskaya I.A. Metody eksperimental'noj mikologii. Spravochnik. Kiev: Naukova dumka. 1982; 552. (in Russian)]
10. Мюллер Э., Лёффлер В. Микология: Пер. с нем. М.: Мир. 1995; 343. [Mjuller E., Leffler V. Mikologiya: Per. s nem. Moscow: Mir. 1995; 343.]
11. Саммон Д., Фотергилл Ф., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов: Пер. с англ. М.: Мир. 2001; 486. [Satton D., Fotergill F., Rinal'di M. Opredelitel' patogennykh i uslovno patogennykh gribov: Per. s angl. Moscow: Mir. 2001; 486.]

About the authors

Vladimir T. Abaev — D. Sc. in Chemistry, Associate Professor, Department of Organic Chemistry, K. L. Khetagurov North Ossetian State University, Vladikavkaz; Department of Chemistry, North Caucasus Federal University, Stavropol, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3009-7221

Gennady S. Kachmazov — Ph. D. in Veterinary Sciences, Associate Professor, Department of Food Technology, K. L. Khetagurov North Ossetian State University, Vladikavkaz, Russia. ORCID ID: 0009-0007-2330-7485

Andrey V. Gutnov — Ph. D. in Chemistry, Associate Professor, Department of Chemistry and Biotechnology, K. L. Khetagurov North Ossetian State University, Vladikavkaz, Russia. ORCID ID: 0000-0002-4492-7639

Albina Y. Tuayeva — graduate student, Laboratory of the Molecular Center of Yeast Genetics, National Research Center «Kurchatov Institute», Moscow, Russia. ORCID ID: 0009-0007-2214-0935

Pavel M. Shpuntov — Institute of Food and Processing Industry, Kuban State Technological University, Krasnodar, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3208-2568

Изучение фармакокинетики и безопасности лекарственного препарата Диоксидин®, раствор для местного и наружного применения, 0,25 мг/мл, при различных путях введения

В. А. СТЕПАНОВ¹, С. В. ПОНАСЕНКОВА¹, Е. С. СИМОНОВА¹, А. Г. НИКИФОРОВА², П. Д. СОБОЛЕВ², А. А. ГЛОБЕНКО³, А. В. КАПАШИН³, *М. А. ПАСЬКО³

¹ ООО «Экс севен клиникал ресеч», Санкт-Петербург, Россия

² ООО «Экзактэ Лабс», Москва, Россия

³ АО «Валента Фарм», Москва, Россия

Study of the Pharmacokinetics and Safety of Dioxidine®, Solution for Topical and External Use, 0.25 mg/ml, in Various Routes of Administration

VADIM A. STEPANOV¹, SVETLANA V. PONASENKOVA¹, EVGENIA S. SIMONOVA¹, AIYYNA G. NIKIFOROVA², PAVEL D. SOBOLEV², ALEXANDER A. GLOBENKO³, ALEKSEY V. KAPASHIN³, *MAKSIM A. PASKO³

¹ X7 Clinical Research LLC., St. Petersburg, Russia

² Exacte Labs LLC., Moscow, Russia

³ JSC Valenta Pharm, Moscow, Russia

Резюме

Местное применение антибактериальных препаратов в составе комплексной терапии гнойно-воспалительных инфекций кожи и ротоглотки позволяет устранять не только симптомы, но и воздействовать на причину заболевания. Диоксидин® представляет собой антибактериальный препарат широкого спектра действия, активный в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Цель исследования — изучение биодоступности, фармакокинетических параметров и профиля безопасности лекарственного препарата Диоксидин®, раствор для местного и наружного применения, 0,25 мг/мл, при накожном и местном нанесении. В качестве препарата сравнения выступала другая лекарственная форма препарата — Диоксидин® в виде раствора для инфузий и наружного применения, 5 мг/мл. Исследование состояло из 4 периодов, отражающих различные пути введения лекарственных препаратов: полоскание ротоглотки (путь А), однократное орошение ротоглотки при помощи насадки-распылителя (путь В), орошение кожных покровов спины (путь С) и внутривенное введение (путь D — для препарата сравнения). Результаты проведенного исследования позволили определить абсолютную нормированную на дозу биодоступность исследуемого препарата при указанных путях введения, а также оценить профиль его безопасности.

Ключевые слова: Диоксидин®; гидроксиметилхиноксалиндиоксид; фармакокинетика; биодоступность; безопасность; острый тонзиллофарингит; пиодермия

Для цитирования: Степанов В. А., Понасенкова С. В., Симонова Е. С., Никифорова А. Г., Соболев П. Д., Глобенко А. А., Капашин А. В., Пасько М. А. Изучение фармакокинетики и безопасности лекарственного препарата Диоксидин® раствор для местного и наружного применения, 0,25 мг/мл, при различных путях введения. *Антибиотики и химиотерапия*. 2023; 68 (11–12): 30–37. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-30-37>.

Abstract

Topical use of antibacterial drugs as part of complex therapy for purulent-inflammatory infections of the skin and oropharynx can not only eliminate the symptoms but also influence the cause of the disease. Dioxidine® is a broad-spectrum antibacterial drug, active against both gram-positive and gram-negative bacteria. The aim of this study was to investigate the bioavailability, pharmacokinetic parameters, and safety profile of Dioxidine®, solution for topical and external use, 0.25 mg/ml, in cutaneous and topical application. Another dosage form of Dioxidine® — a solution for infusion and external use, 5 mg/ml — was used as a comparison drug. The study consisted of 4 stages reflecting different routes of drug administration: rinsing the oropharynx (path A), a single irrigation of the oropharynx using a spray nozzle (path B), back skin irrigation (path C), and intravenous administration (path D — for the reference drug). The results of the study made

© Коллектив авторов, 2023

*Адрес для корреспонденции:

E-mail: maksim.pasko@valentapharm.com

© Team of Authors, 2023

*Correspondence to:

E-mail: maksim.pasko@valentapharm.com

it possible to determine the absolute dose-normalized bioavailability of the study drug in the indicated routes of administration, as well as to evaluate its safety profile.

Keywords: *Dioxidine®; hydroxymethylquinoxalindioxide; pharmacokinetics; bioavailability; safety; acute tonsillopharyngitis; pyoderma*

For citation: Stepanov V. A., Ponasenkov S. V., Simonova E. S., Nikiforova A. G., Sobolev P. D., Globenko A. A., Kapashin A. V., Pasko M. A. Study of the pharmacokinetics and safety of Dioxidine®, solution for topical and external use, 0.25 mg/ml, in various routes of administration. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68 (11–12): 30–37. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-30-37>.

Введение

Ежегодно в США регистрируют около 12 млн обращений к врачу по поводу острого фарингита [1]. Боль в горле, как основной симптом заболеваний взрослых и детей, является причиной обращения за амбулаторной помощью в 2 и 5% случаев, соответственно [2]. Причиной развития острого тонзиллофарингита (ОТФ), объединяющего в одну нозологию воспаление небных миндалин и глотки, в подавляющем большинстве случаев являются вирусы и бактерии. Среди бактериальных агентов, вызывающих ОТФ, чаще всего выявляют β -гемолитический стрептококк группы А (БГСА, *Streptococcus pyogenes*), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisseria gonorrhoeae* и другие патогены [3]. Инфицирование бактериями может происходить как первично, так и вторично, после присоединении бактериальной микрофлоры на фоне вирусного заболевания [4]. Несмотря на то, что вызванный БГСА тонзиллофарингит может протекать в лёгкой форме, последствия длительного нахождения патогена в организме могут представлять серьёзную опасность для здоровья. Установлено, что БГСА в ряде случаев приводит к развитию острой ревматической лихорадки, гломерулонефрита, артритов, ревматической болезни сердца и других тяжёлых состояний [5–6].

Пиодермии объединяют группу гнойно-воспалительных заболеваний кожи и подкожной клетчатки. По глубине поражения выделяют поверхностную и глубокую пиодермию. Одним из характерных признаков поверхностной пиодермии является появление на коже везикулярно-пустулёзных высыпаний. В случае развития глубокой пиодермии воспаление распространяется до глубоких слоёв дермы, а также может переходить на подкожно-жировую клетчатку. Симптомы пиодермии могут различаться в зависимости от локализации, глубины и площади поражения тканей. Основными возбудителями пиодермий являются стафилококки и стрептококки, наиболее часто — *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis* и БГСА. Пиодермии относятся к наиболее распространённым заболеваниям кожи, на долю которых приходится до 30–40% от всей дерматологической па-

тологии [7–10]. Для местного лечения поверхностных форм пиодермии чаще всего используются антисептики для наружного применения и анилиновые красители [9, 10]. В случае гнойного отделяемого для санации очагов поражения назначают антибактериальные препараты для наружного применения. Системную антибактериальную терапию проводят лишь в случае выявления распространённых, глубоких, хронических или рецидивирующих пиодермий, при отсутствии эффекта от местной терапии, выявлении симптомов интоксикации (лихорадка, недомогание), при глубокой локализованной пиодермии на лице, а также в случае развития осложнений (лимфаденит, лимфангит) [11].

Лекарственный препарат Диоксидин® представляет собой антибактериальный препарат, действующим веществом которого является гидроксиметилхиноксалиндиоксид. Длительный опыт применения, клиническая эффективность и хороший профиль безопасности при местном нанесении позволяют использовать его для лечения инфекций кожи и ЛОР-органов [12–20]. АО «Валента Фарм» разработало новую лекарственную форму препарата Диоксидин® — раствор для местного и наружного применения, 0,25 мг/мл, предназначенную для лечения острого тонзиллофарингита и поверхностной пиодермии. В статье представлены результаты клинического исследования, в котором оценивались безопасность, фармакокинетические параметры и биодоступность новой лекарственной формы препарата Диоксидин® при различных путях введения в сравнении с ранее зарегистрированной лекарственной формой в виде раствора для инфузий и наружного применения, 5 мг/мл.

Материал и методы

Клиническое исследование было проведено в соответствии с протоколом, принципами Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации, стандартами по Надлежащей Клинической Практике (ICH E6 GCP), а также в соответствии с действующим законодательством Российской Федерации (РФ) и Евразийского экономического союза (ЕАЭС). До начала исследования было получено разрешение Минздрава России на проведение клинического исследования № 322 от 04 мая 2022 г. и одобрение Совета по этике при Минздраве России (выписки из протокола заседания № 295 от 07 декабря 2021 г. и № 311 от 14 июня 2022 г.). До проведения каких-либо процедур добровольцы подписывали форму

информированного согласия и имели право отказаться от участия в исследовании в любой момент.

По своему дизайну данное исследование являлось открытым рандомизированным перекрёстным сравнительным исследованием, целью которого являлось изучение безопасности, фармакокинетики и абсолютной биодоступности лекарственного препарата Диоксидин®, раствор для местного и наружного применения, 0,25 мг/мл, при различных путях введения у здоровых добровольцев (идентификатор на портале ClinicalTrials.gov: NCT05505097). В качестве препарата сравнения выступала ранее зарегистрированная лекарственная форма препарата — Диоксидин®, раствор для инфузий и наружного применения, 5 мг/мл.

В исследование включали здоровых (по данным стандартных клинических, лабораторных, инструментальных методов обследования) добровольцев в возрасте от 18 до 45 лет с индексом массы тела (ИМТ) от 18,5 до 30 кг/м² при массе тела мужчин ≥ 55 кг, а женщин ≥ 45 кг. Добровольцы соответствовали следующим критериям включения: уровень систолического артериального давления в пределах от 100 до 130 мм рт. ст., а диастолического давления — от 60 до 90 мм рт. ст.; частота сердечных сокращений (ЧСС) от 60 до 90 уд. в минуту; для женщин детородного возраста обязательным являлся отрицательный тест на беременность; согласие добровольцев воздерживаться от половых контактов или использовать двойной барьерный метод контрацепции в течение всего исследования, а также в течение 3 нед. после его завершения; способность соблюдать режим дня и режим питания, установленный протоколом исследования, а также возможность посещать все запланированные визиты.

Основными критериями невключения являлись: отягощённый аллергологический анамнез; лекарственная непереносимость действующего и/или вспомогательных веществ; невозможность успешно выполнить пробу полоскания ротоглотки; наличие хронических заболеваний; хирургические вмешательства на желудочно-кишечном тракте в анамнезе (за исключением аппендэктомии); острые инфекционные заболевания менее чем за 4 нед. до скрининга; приём лекарственных препаратов, оказывающих выраженное влияние на гемодинамику или функцию печени менее чем за 2 мес. до скрининга; регулярный приём лекарственных препаратов в течение 2 нед. до скрининга или разовый приём лекарственных препаратов за 7 дней до скрининга; донорская сдача крови (450 мл крови или плазмы и более) менее чем за 3 мес. до проведения скрининга; для женщин — приём оральных контрацептивов не менее чем за 2 мес. до скрининга, беременность или грудное вскармливание; невозможность воздерживаться от половых контактов или использовать двойной барьерный метод контрацепции на протяжении исследования и в течение 3 нед. после его окончания; участие в другом клиническом исследовании менее чем за 3 мес. перед скринингом или параллельно с настоящим исследованием; приём более чем 10 ед. алкоголя (1 ед. алкоголя эквивалентна 330 мл пива, 150 мл вина или 40 мл крепких алкогольных напитков) в неделю в течение месяца до включения в исследование или анамнестические сведения об алкоголизме, наркомании, злоупотреблении лекарственными препаратами; курение более 10 сигарет в день в настоящее время, либо за 6 мес. до проведения скрининга; положительный анализ крови на ВИЧ, сифилис, гепатиты В и С; положительный анализ мочи на содержание наркотических веществ и сильнодействующих лекарственных средств; положительный тест на содержание паров алкоголя в выдыхаемом воздухе; положительный тест на COVID-19; а также прочие условия, которые, по мнению исследователя, препятствуют включению добровольца в исследование.

Всего в исследовании было скринировано 24 здоровых добровольца, из которых 16 человек были рандомизированы в 4 группы ($n=4$) в зависимости от последовательности путей введения препаратов. Исследование состояло из 4 периодов,

отражающих различные пути введения лекарственных препаратов. Путь А предполагал однократное полоскание ротоглотки исследуемым препаратом в объёме 15,0 мл (3,5 мг) в течение не менее 30 с; путь В — однократное орошение ротоглотки путём 4-кратного распыления препарата (0,84 мг) с помощью насадки-распылителя; путь С — орошение кожных покровов спины путём 4-кратного распыления препарата (0,84 мг) с расстояния 10 см на 1% площади тела с помощью насадки-распылителя и экспозиции раствора в течение 30 мин; путь D — однократное внутривенное введение препарата сравнения в объёме 1 мл (5 мг). При путях введения А, В и С применяли лекарственный препарат Диоксидин®, раствор для местного и наружного применения, 0,25 мг/мл, а для пути введения D — Диоксидин®, раствор для инфузий и наружного применения, 5 мг/мл. Таким образом, каждой из 4 групп добровольцев соответствовала своя последовательность применения препаратов — ABCD, BCDA, CDAB или DABC. В группу добровольцев из последовательности ABCD было включено 2 мужчины и 2 женщины (средний возраст 35,3±7,1 лет), в группу BCDA — 3 мужчины и 1 женщина (средний возраст 26,5±4,7 лет), в группу CDAB — 2 мужчины и 2 женщины (средний возраст 32,5±7,7 лет), в группу DABC — 2 мужчины и 2 женщины (средний возраст 32,0±11,1 лет).

Общая продолжительность участия в исследовании для добровольца составила не более 43 дней. Период скрининга составлял от 1 до 14 дней. Длительность каждого из периодов исследования составила 24 ч, а отмывочных периодов между ними — 7 дней, визит завершения проводился через 7±1 дней после последнего применения препаратов.

В каждом периоде исследования у добровольцев отбиралось 16 проб крови: до применения исследуемых препаратов (0 мин), через 5 мин; 15 мин; 30 мин; 45 мин; 1,0 ч; 1 ч 30 мин; 2,0 ч; 2 ч 30 мин; 3,0 ч; 4,0 ч; 6,0 ч; 8,0 ч; 10,0 ч; 12,0 ч и 16,0 ч после применения исследуемых препаратов.

Количественное определение гидроксиметилхиноксалиндиоксида (диоксидина) в образцах плазмы крови проводили валидированным методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Биоаналитический метод был валидирован по следующим характеристикам: степень извлечения соединений из плазмы, матричный эффект, нижний предел количественного определения (НПКО), калибровочный диапазон, точность, прецизионность, селективность (специфичность), перенос пробы, а также стабильность соединений. При определении НПКО было установлено, что диоксидин может быть определён в плазме человека на уровне 1 нг/мл с достаточной точностью и прецизионностью. Извлечение исследуемого соединения из плазмы крови осуществлялось путём осаждения охлаждённым метанолом. В связи с низкой биодоступностью диоксидина при кожном нанесении, был разработан и валидирован дополнительный метод определения действующего вещества с НПКО 20 пг/мл. Для данного метода определение концентрации диоксидина в плазме крови осуществлялось путём жидкостно-жидкостной экстракции этилацетатом с последующим концентрированием в токе азота.

Рассчитывались следующие фармакокинетические показатели: площадь под фармакокинетической кривой «плазменная концентрация — время» от начального момента применения препарата до времени отбора последнего образца крови с концентрацией выше НПКО ($AUC_{(0-t)}$), площадь под фармакокинетической кривой «плазменная концентрация — время», экстраполированная до бесконечности ($AUC_{(0-\infty)}$); максимальная концентрация в плазме крови (C_{max}), время достижения максимальной концентрации (t_{max}), период полувыведения ($t_{1/2}$), время от точки 0 до первой точки с концентрацией выше НПКО (t_{lag}); доля (в %) $AUC_{(0-t)}$ от $AUC_{(0-\infty)}$; константа элиминации (k_{el}); среднее время удержания препарата в крови (MRT); кажущийся объём распределения (V_d).

Оценка абсолютной биодоступности проводилась путём вычисления 90% доверительных интервалов (ДИ) для отношений средних геометрических анализируемых параметров

($AUC_{(0-t)}$ и C_{max}) для путей введения А, В и С относительно пути D.

Безопасность исследуемого препарата оценивали по частоте развития нежелательных явлений (НЯ) и серьёзных нежелательных явлений (СНЯ), а также на основании изменения данных лабораторных показателей (общий анализ крови, биохимический анализ крови, анализ крови на гормоны коры надпочечников (альдостерон, кортизол), общий анализ мочи, оценка клубочковой фильтрации), электрокардиографии (ЭКГ) и данных мониторинга основных показателей жизнедеятельности.

Популяция для анализа фармакокинетики состояла из всех рандомизированных добровольцев, завершивших как минимум один период исследования. Популяция для анализа безопасности включала всех рандомизированных добровольцев, применивших хотя бы одну дозу исследуемого препарата.

Расчёт фармакокинетических параметров проводился при помощи программного обеспечения Phoenix™ WinNonlin 8.1. Статистические расчёты были выполнены с помощью специализированного программного обеспечения SAS™ 9.4.

Результаты и обсуждение

Из 16 рандомизированных добровольцев 14 завершили исследование полностью, 2 добровольца преждевременно завершили исследование в связи с положительным тестом на COVID-19. При этом данные всех 16 добровольцев были включены в популяцию для анализа фармакокинетики и безопасности.

Усреднённые фармакокинетические кривые диоксида для изучаемых путей введения представлены на рис. 1 и рис. 2 в линейных и полуполулогарифмических координатах, соответственно.

На основании полученных данных о концентрациях диоксида был проведён расчёт фармакокинетических параметров. При расчёте V_d и био-

доступности использовалась доза исследуемого препарата, равная 3,75 мг для пути А (15 мл × 0,25 мг/мл), 0,84 мг для пути В (4 × 0,21 мг), 5 мг для пути D (1 мл × 5 мг/мл).

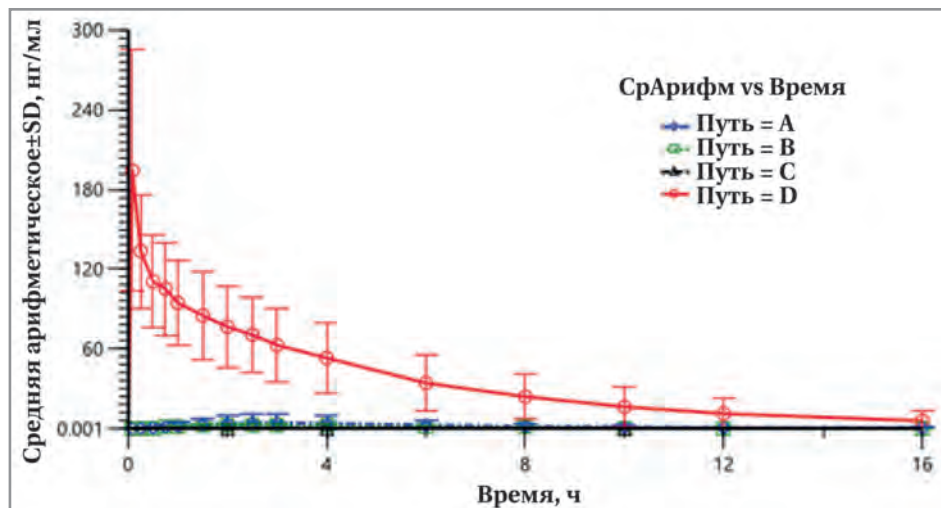


Рис. 1. Усреднённые фармакокинетические кривые диоксида при различных путях введения (в линейных координатах)

Примечание. По оси X представлено время в часах; по оси Y — средняя арифметическая концентрация ± SD (стандартное отклонение) по точкам отбора проб.

Fig. 1. Averaged pharmacokinetic curves of Dioxidine® in various routes of administration (in linear coordinates)

Note. The X-axis represents time in hours, and the Y-axis represents the arithmetic mean concentration ± SD (standard deviation) at sampling points.

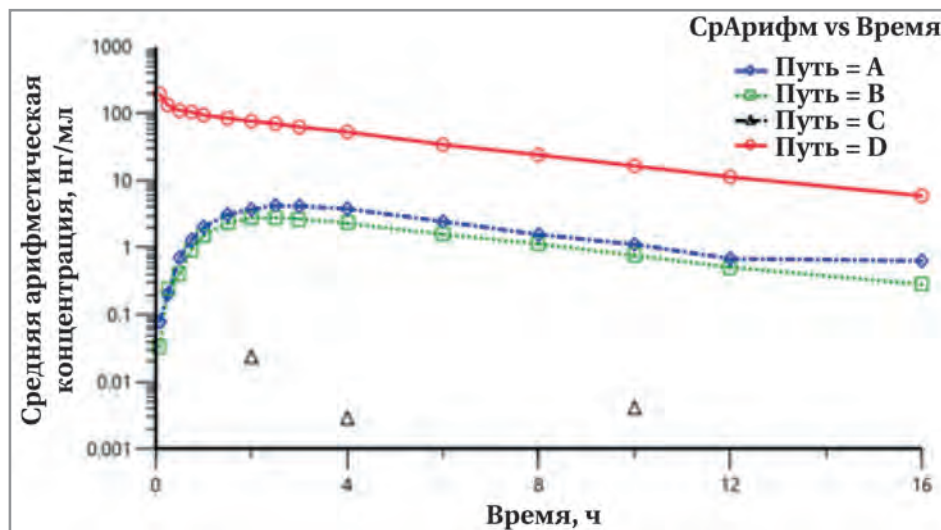


Рис. 2. Усреднённые фармакокинетические кривые диоксида при различных путях введения (в полулогарифмических координатах)

Примечание. По оси X представлено время в часах; по оси Y — средняя арифметическая концентрация по точкам отбора проб (логарифмическая шкала, рассчитана исходя из средних арифметических по временным точкам). Для пути введения С только для трёх добровольцев наблюдались единичные пробы с концентрациями выше НПКО.

Fig. 2. Averaged pharmacokinetic curves of Dioxidine® in various routes of administration (in semi-logarithmic coordinates)

Note. The X axis represents time in hours, the Y axis represents the arithmetic mean concentration at sampling points (logarithmic scale calculated based on the arithmetic mean at time points). For route C, single samples with concentrations above the LLOQ were observed for only three volunteers.

Усреднённые значения фармакокинетических показателей препарата Диоксидин® (среднее арифметическое значение ± стандартное отклонение) при различных путях введения

Averaged values of pharmacokinetic parameters of Dioxidine® (arithmetic mean ± standard deviation) in various routes of administration

Показатель	Путь А	Путь В	Путь С**	Путь D
C_{max} , нг/мл	4,423±6,632	2,998±1,368	0,04673±0,08635 0,04863±0,08929	194,2±91,04
$AUC_{(0-t)}$, нг×ч/мл	29,25±43,20	19,41±11,47	0,3383±0,04701 0,2959±0,5323	580,5±293,4
$t_{1/2}$, ч	3,971±1,395	3,643±1,006	—	3,414±0,9089
t_{max} , ч*	2,5	2,5	—	—
t_{lag} , ч*	0,25	0,083 (5 мин)	—	—
V_d , л	1864±1710	250,8±107,4	—	44,86±12,48
MRT, ч	7,137±2,242	6,411±1,557	—	4,808±1,327
$AUC_{(0-t)} A/AUC_{(0-t)} D$, %	7,993±12,08	—	—	—
$C_{max} A/C_{max} D$, %	4,004±7,439	—	—	—
$AUC_{(0-t)} B/AUC_{(0-t)} D$, %	—	19,60±4,995	—	—
$C_{max} B/C_{max} D$, %	—	9,818±3,892	—	—
$AUC_{(0-t)} C/AUC_{(0-t)} D$, %	—	—	0,4113±0,1651 0,3957±0,8228	—
$C_{max} C/C_{max} D$, %	—	—	0,1835±0,3667 0,1835±0,3667	—

Примечание. * — данные представлены в виде медианы; ** — для пути С представлены рассчитанные значения при помощи методов приравнивания значений и нормирования концентраций.

Note. * — data presented as median; ** — methods of equating values and normalizing concentrations were used to present path C values.

Для пути С концентрации действующего вещества выше НПКО определялись только у трёх добровольцев, в связи с чем непосредственная оценка фармакокинетики исследуемого препарата не представлялась возможной. Для определения основных фармакокинетических параметров ($AUC_{(0-t)}$ и C_{max}) были применены 2 статистических метода, позволяющих оценить выборку с частично отсутствующими значениями. Первый метод заключался в приравнивании (вменении) значений концентрации ниже уровня НПКО к НПКО. При использовании данного метода было рассчитано среднее значение C_{max} после однократного применения препарата, которое составило не более 0,04673±0,08635 нг/мл, а также среднее значение $AUC_{(0-t)}$ — не более 0,3383±0,04701 нг×ч/мл. Второй метод предполагал нормирование концентраций после однократного орошения ротоглотки путём 4-кратного распыления (путь В) к C_{max} пути С. Расчёт фармакокинетических параметров при помощи данного метода показал значения 0,04863±0,08929 нг/мл и 0,2959±0,5323 нг×ч/мл для средних значений C_{max} и $AUC_{(0-t)}$, соответственно. Несмотря на то, что для расчёта параметров C_{max} и $AUC_{(0-t)}$ применялись разные статистические методы, в обоих случаях были получены достаточно близкие результаты.

Сведения о фармакокинетических показателях препарата Диоксидин® при различных путях введения обобщены в таблице.

Как видно из представленных значений, период полувыведения ($t_{1/2}$) был сопоставим для путей введения А, В и D (от 3,414 до 3,971 ч). При этом $t_{1/2}$ был несколько меньше при внутривенном вве-

дении препарата из-за более ранней начальной точки определения, что является следствием отсутствия фазы абсорбции. Время удержания препарата в крови (MRT) составило 7,137 ч для пути А и 6,411 ч для пути В. Различие в значениях (около 40 мин) могло быть обусловлено как вариабельностью определяемого параметра, так и разностью среднего времени, необходимого для абсорбции препарата. Это перекликается со значением t_{lag} (более длинного для пути А — 15 мин в сравнении с путём В — 5 мин). Рассчитанное значение MRT для пути D было на 2,3 ч меньше, чем для пути А и на 1,6 ч меньше, чем для пути В. Таким образом, можно предположить, что выявленная разница во времени удержания препарата по сравнению с внутривенным введением (путь D) соответствует среднему времени его абсорбции для путей введения А и В, соответственно.

Также для путей введения А, В и С был произведён расчёт абсолютной нормированной на дозу биодоступности, которая выражалась в виде отношения $AUC_{(0-t)}$ исследуемого пути введения к $AUC_{(0-t)}$ пути D, а также C_{max} исследуемого пути введения к C_{max} пути D.

Расчёт абсолютной нормированной на дозу биодоступности по параметру AUC проводился по следующей формуле:

$$\frac{\text{Абсолютная биодоступность, нормированная на дозу}}{1} = \frac{AUC_{noninf}/Dose}{AUC_{inf}/Dose},$$

где AUC_{noninf} — значение параметра AUC для неинфузионных путей введения (А, В или С); AUC_{inf} — значение параметра AUC для пути D;

Dose — доза препарата, соответствующая пути его введения.

Для пути А среднее значение абсолютной нормированной на дозу биодоступности, рассчитанное с использованием параметра $AUC_{(0-t)}$, составило $7,993 \pm 12,08\%$. При расчёте данного показателя на основании параметра C_{max} его среднее значение составляло $4,004 \pm 7,439\%$. Для пути В среднее значение абсолютной нормированной на дозу биодоступности исследуемого препарата в сравнении с однократным внутривенным введением препарата сравнения (путь D) составило $19,60 \pm 4,995\%$ и $9,818 \pm 3,892\%$ для отношений $AUC_{(0-t)}$ и C_{max} соответственно.

Так как для расчёта фармакокинетических параметров $AUC_{(0-t)}$ и C_{max} для пути С потребовалось применение дополнительных статистических методов, в результате применения которых было получено 2 группы значений, то оценка абсолютной нормированной на дозу биодоступности проводилась отдельно по каждой группе. При использовании метода приравнивания концентраций ниже НПКО к НПКО, средние значения абсолютной нормированной на дозу биодоступности пути С в сравнении с однократным внутривенным введением (путь D) составляли $0,4113 \pm 0,1651\%$ и $0,1835 \pm 0,3667\%$ для отношений $AUC_{(0-t)}$ и C_{max} соответственно. При применении метода нормирования концентраций средние значения абсолютной нормированной на дозу биодоступности пути С, в сравнении с однократным внутривенным введением (путь D) составили $0,3957 \pm 0,8228\%$ и $0,1835 \pm 0,3667\%$ для отношений $AUC_{(0-t)}$ и C_{max} соответственно. Также были определены значения относительной нормированной на дозу биодоступности пути А относительно пути В, которые определялись как отношения $AUC_{(0-t)} A / AUC_{(0-t)} B$ и $C_{max} A / C_{max} B$ и составили $10,53 \pm 16,49\%$ и $10,88 \pm 17,88\%$, соответственно.

Следующим этапом был проведён дисперсионный анализ, в результате которого были рассчитаны 90% ДИ для отношения геометрических средних $AUC_{(0-t)} / \text{Доза}$ при различных путях введения в сравнении с путём D. Так, для пути А 90% ДИ для показателя $AUC_{(0-t)} / \text{Доза}$ составил 2,31–6,34%. На основании этого можно заключить, что по нормированной $AUC_{(0-t)}$ абсолютная биодоступность для пути А была в 26 раз ниже по сравнению с путём D. Для пути В 90% ДИ для отношения геометрических средних $AUC_{(0-t)} / \text{Доза}$ составил 16,33–21,54%. Рассчитанные значения позволили сделать вывод о том, что по нормированной $AUC_{(0-t)}$ абсолютная биодоступность для пути В была в 5,3 раза ниже по сравнению с путём D.

Для пути С при использовании метода приравнивания концентраций верхние границы 90% ДИ для отношения геометрических средних

$AUC_{(0-t)} / \text{Доза}$ составили 0,49%. Таким образом, при использовании метода приравнивания концентраций абсолютная биодоступность для пути С была в 204 раза ниже по сравнению с путём D. В то же время при применении метода нормирования концентраций 90% ДИ для отношения геометрических средних $AUC_{(0-t)} / \text{Доза}$ составил 0,33%. В этом случае абсолютная биодоступность по показателю нормированной $AUC_{(0-t)}$ была в 303 раза ниже для пути С по сравнению с путём D.

Рассчитанные в ходе дисперсионного анализа 90% ДИ для отношения геометрических средних $AUC_{(0-t)} / \text{Доза}$ пути А к пути В составил 12,00–34,65%. На основании рассчитанных значений было показано, что абсолютная биодоступность пути А по нормированным значениям $AUC_{(0-t)}$ была в 5 раз меньше по сравнению с путём В.

На протяжении исследования было зарегистрировано 13 НЯ у 11 добровольцев. При этом 11 НЯ, выявленные у 9 добровольцев, были отнесены исследователями в группу возможно связанных с применением препаратов. Среди них 6 НЯ были зарегистрированы при использовании препарата по пути D, по 2 НЯ при путях нанесения В и С, а также 1 НЯ при пути применения А. Все зарегистрированные НЯ были лёгкой степени тяжести и разрешились полным выздоровлением без каких-либо последствий для здоровья добровольцев. В исследовании не было зарегистрировано ни одного СНЯ.

Заключение

Проведённое исследование позволило учесть фармакокинетику лекарственного препарата Диоксидин®, раствор для местного и наружного применения, 0,25 мг/мл, при различных путях нанесения — при полоскании и распылении в области ротоглотки, а также при накожном применении. Впервые для данного препарата была оценена абсолютная нормированная на дозу биодоступность при вышеуказанных путях нанесения. В ходе исследования был подтверждён благоприятный профиль безопасности исследуемого препарата при различных путях введения. Все зарегистрированные НЯ были лёгкой степени тяжести и разрешились самостоятельно без последствий для здоровья добровольцев.

Конфликт интересов. Авторы статьи являются сотрудниками фармацевтической компании АО «Валента Фарм», исследовательского центра и биоаналитической лаборатории, на базе которых проводилось данное исследование. Статья опубликована при финансовой поддержке АО «Валента Фарм».

Литература/References

1. Norton L., Myers A. The treatment of streptococcal tonsillitis/ pharyngitis in young children. World Journal of Otorhinolaryngology. Head and Neck Surgery. 2021; 07 (03): 161–165. doi: 10.1016/j.wjorl.2021.05.005.
2. Sadeghirad B., Siemieniuk R.A.C., Brignardello-Petersen R., Papola D., Lytvyn L., Vandvik P.O., Merglen A., Guyatt G.H., Agoritsas T. Corticosteroids for treatment of sore throat: systematic review and meta-analysis of randomised trials. BMJ. 2017; 358: j3887. doi: 10.1136/bmj.j3887.
3. Морозова С.В. Аргументированность симптоматической терапии острого тонзиллофарингита. РМЖ. 2013; 29: 1496. [Morozova S.V. Reasonableness of symptomatic therapy of acute tonsillopharyngitis. RMJ. 2013; 29: 1496. (in Russian)]
4. Карпищенко С.А., Колесникова О.М. Местная терапия острого тонзиллофарингита. РМЖ. 2022; 2: 50–54. [Karpischenko S.A., Kolesnikova O.M. Topical therapy of acute tonsillopharyngitis. RMJ. 2022; 2: 50–54. (in Russian)]
5. Захарова И.Н., Бережная И.В., Майкова И.Д. и др. Острый тонзиллофарингит стрептококковой этиологии у детей: важность быстрой диагностики. РМЖ. 2023; 2: 67–71 [Zakharova I.N., Berezhnaya I.V., Maykova I.D. et al. Acute tonsillopharyngitis of streptococcal etiology in children: the importance of rapid diagnosis. RMJ. 2023; 2: 67–71. (in Russian)]
6. Острый тонзиллит и фарингит (острый тонзиллофарингит). Клинические рекомендации (одобreno Научно-практическим Советом Минздрава РФ). 2021. [Ostryj tonzillit i faringit (ostryj tonzillofaringit). Klinicheskie rekomendatsii (odobreno Nauchno-prakticheskimi Sovetom Minzdrava RF). 2021. (in Russian)]
7. Масюкова С.А., Гладько В.В., Устинов М.В. и др. Бактериальные инфекции кожи и их значение в клинической практике дерматолога. Consilium Medicum. 2004; 6 (3):180–185. [Masyukova S.A., Glad'ko V.V., Ustinov M.V. et al. Bakterial'nye infektsii kozhi i ikh znachenie v klinicheskoy praktike dermatologa. Consilium Medicum. 2004; 6 (3): 180–185. (in Russian)]
8. Белькова Ю.А. Пиодермии в амбулаторной практике. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2005; 7 (3): 255–270. [Belkova Yu.A. Pyoderma in Outpatients. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2005; 7 (3): 255–270. (in Russian)]
9. Олисова О.Ю., Плиева Л.Р. Терапия пиодермий. РМЖ. 2014; 8: 610–612. [Olisova O.Yu., Plieva L.R. Therapy of pyoderma. RMJ. 2014; 8: 610–612. (in Russian)]
10. Плиева Л.Р. К терапии поверхностных пиодермий. Российский журнал кожных и венерических болезней. 2015; 18 (1): 37–39. [Plieva L.R. On therapy of surface pyoderma. Rossiyskiy Zhurnal Kozhnykh i Venericheskikh Bolezney. 2015; 18 (1): 37–39. (in Russian)]
11. Пиодермии. Клинические рекомендации (разработаны Общероссийской общественной организацией «Российское общество дерматовенерологов и косметологов»). 2020. [Piodermii. Klinicheskie rekomendatsii (razrabotany Obshcherossiyskoy obshchestvennoy organizatsiei «Rossijskoe Obshchestvo Dermatovenerologov i Kosmetologov»). 2020. (in Russian)]
12. Крюков А.И., Кунельская Н.Л., Царапкин Г.Ю. и др. Изучение эффективности и безопасности местной антибактериальной терапии острого гнойного верхнечелюстного синусита. Медицинский Совет. 2015; 15: 12–9. [Kryukov A. I., Kunelskaya N. L., Tsarapkin G. Y. et al. A study of the efficacy and safety of local antibiotic treatment of acute purulent maxillary sinusitis. Meditsinskiy Sovet. 2015; 15: 12–9. (in Russian)]
13. Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., Шевчик Е.В., Золотова А.В., Волкова К.Б. Возможности местного этиотропного лечения больных хроническим тонзиллитом. Медицинский Совет. 2016; 18: 116–120. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2016-18-116-120>. [Svistushkin V.M., Nikiforova G.N., Shevchik E.V., Zolotova A.V., Volkova K.B. Possibilities of topical etiotropic therapy of chronic tonsillitis patients. Meditsinskiy Sovet. 2016; 18: 116–120. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2016-18-116-120>. (in Russian)]
14. Крюков А.И., Кунельская Н.Л., Гуров А.В., Изотова Г.Н., Романенко С.Г., Павлихин О.Г., Муратов Д.Л. Возможности антисептических средств в терапии ларингеальной и тонзиллярной патологии. Медицинский Совет. 2016; 6: 36–40. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2016-6-36-40>. [Kryukov A.I., Kunelskaya N.L., Gurov A.V., Izotova G.N., Romanenko S.G., Pavlikhin O.G., Muratov D.L. Prospects for antiseptics in the treatment of laryngeal and tonsillar pathology. Meditsinskiy Sovet. 2016; 6: 36–40. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2016-6-36-40>. (in Russian)]
15. Овчинников А.Ю., Егиян С.С. Наш опыт этиотропного лечения воспалительных заболеваний наружного и среднего уха. Российская оториноларингология. 2021; 20 (6): 115–124. <https://doi.org/10.18692/1810-4800-2021-6-115-124>. [Ovchinnikov A.Yu., Egiyan S.S. Our experience of etiotropic treatment of inflammatory diseases of the external and middle ear. Rossiiskaya Otorinolaringologiya. 2021; 20 (6): 115–124. <https://doi.org/10.18692/1810-4800-2021-6-115-124>. (in Russian)]
16. Рябова М.А., Улютов М.Ю. Терапия хронического риносинусита в период обострения. Медицинский совет. 2022; 16 (8): 56–60. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2022-16-8-56-60>. [Ryabova M.A., Ulupov M.Yu. Treatment of chronic rhinosinusitis exacerbations. Meditsinskiy Sovet. 2022; 16 (8): 56–60. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2022-16-8-56-60>. (in Russian)]
17. Рязанцев С.В., Балацкая К.А., Ткачук И.В., Голованов А.Е., Киреев П.В. Топическая антибактериальная терапия перфоративных отитов в пандемию COVID-19. Медицинский совет. 2022; 16 (20): 101–9. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2022-16-20-101-109> [Ryazantsev S.V., Balatskaya K.A., Tkachuk I.V., Golovanov A.E., Kireev P.V. Topical antibiotic therapy for perforated otitis in the COVID-19 pandemic. Meditsinskiy Sovet. 2022; 16 (20): 101–109. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2022-16-20-101-109>. (in Russian)]
18. Белоусова Т.А., Парамонов А.А., Горячкина М.В. Местная терапия бактериальных и некротически-язвенных поражений кожи и мягких тканей: поиск оптимальных решений. Фарматека. 2014; 10: 62. [Belousova T.A., Paramonov A.A., Goryachkina M.V. Local therapy of bacterial and necrotic ulcerative lesions of the skin and soft tissues: search for optimal solutions. Farmateka. 2014; 10: 62. (in Russian)]
19. Кашиников В.Н., Михайлова Т.Л., Головенко О.В. и др. Тяжелая генерализованная форма гангренозной пиодермии у больной язвенным колитом (клиническое наблюдение). Колопроктология. 2011; 1 (35): 37–40. [Kashnikov V.N., Mikhailova T.L., Golovenko O.V. et al. Severe generalized form of gangrenous pyoderma in a patient with ulcerative colitis (clinical observation). Koloproktologia. 2011; 1 (35): 37–40. (in Russian)]
20. Богданец Л.И., Смирнова Е.С., Васильев И.М. Эффективность диоксидина в лечении трофических язв венозной этиологии. Хирургия Журнал им. Н. И. Пирогова. 2014; 9: 64–67. [Bogdanets L.I., Smirnova E.S., Vasiliev I.M. Effectiveness of Dioxidine in the treatment of trophic ulcers of venous etiology. Pirogov Russian Journal of Surgery. 2014; 9: 64–67. (In Russian)]

Информация об авторах

Степанов Вадим Алексеевич — старший врач-терапевт ООО «Экс севен клиникал ресеч», Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0009-0005-8484-7851

Понасенкова Светлана Валерьевна — заведующий отделением 1 фазы и биоэквивалентности ООО «Экс севен клиникал ресеч», Санкт-Петербург, Россия

Симонова Евгения Сергеевна — врач-терапевт ООО «Экс севен клиникал ресеч», Санкт-Петербург, Россия

Никифорова Айыына Григорьевна — руководитель отдела биоаналитики ООО «Экзактэ Лабс», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-5719-0787

Соболев Павел Дмитриевич — заведующий лабораторией биоаналитики ООО «Экзактэ Лабс», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3634-596X

About the authors

Vadim A. Stepanov — Senior physician at X7 Clinical Research, LLC, Saint-Petersburg, Russia. ORCID ID: 0009-0005-8484-7851

Svetlana V. Ponasenkova — Head of the Phase 1 and Bioequivalence Department at X7 Clinical Research, LLC, Saint-Petersburg, Russia

Eugenia S. Simonova — Physician at X7 Clinical Research, LLC, Saint-Petersburg, Russia

Aiyuna G. Nikiforova — Head of the Bioanalytical Department, Exacte Labs, LLC, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-5719-0787

Pavel D. Sobolev — Head of the Bioanalytical Laboratory, Exacte Labs, LLC, Moscow, Russian Federation. ORCID ID: 0000-0003-3634-596X

Глобенко Александр Александрович — Руководитель медицинского управления АО «Валента Фарм», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-9295-2663

Капашин Алексей Валерьевич — руководитель группы разработки и анализа документов клинических исследований и регистрационных досье АО «Валента Фарм», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-9437-0322

Пасько Максим Андреевич — к. м. н., специалист группы разработки и анализа документов клинических исследований и регистрационных досье АО «Валента Фарм», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-8518-3736

Alexander A. Globenko — Head of the Medical Department, Valenta Pharm JSC, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-9295-2663

Aleksey V. Kapashin — Head of the Group for Development and Analysis of the Clinical Trial Documents and Registration Dossiers, Valenta Pharm JSC, Moscow, Russian Federation. ORCID ID: 0000-0002-9437-0322

Maksim A. Pasko — Ph. D. in Medicine, Specialist of the Group for Development and Analysis of the Clinical Trial Documents and Registration Dossiers, Valenta Pharm JSC, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-8518-3736

Метод WHO AWaRe для анализа клинической практики антимикробной терапии в детских многопрофильных стационарах России

*А. В. ВЛАСОВА^{1,2,3}, Т. В. КУЛИЧЕНКО¹, Е. В. СМЕРНОВА^{1,2},
Л. В. ДЫМНОВА^{1,2}, Н. Н. ВОЛКОВА², Д. А. СЫЧЕВ³

¹ ФГАУ РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

² ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ», Москва, Россия

³ ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва, Россия

WHO AWaRe Method for Analysis of Clinical Practice of Antimicrobial Therapy in Children's Multidisciplinary Hospitals in Russia

*ANNA V. VLASOVA^{1,2,3}, TATYANA V. KULICHENKO², ELENA V. SMIRNOVA^{1,2},
LILIYA V. DYMNOVA^{1,2}, NADEZHDA N. VOLKOVA², DMYTRII A. SICHEV³

¹ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

² Morozov Children's City Clinical Hospital, Moscow, Russia

³ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

Резюме

Предложенный ВОЗ новый метод WHO AWaRe для оценки клинической практики использования антибиотиков в 2017 г. для взрослых был адаптирован для детских стационаров в 2019 г. благодаря обновлению категоризации АМП и показал эффективность для оценки рациональности потребления АМП в детских стационарах стран-участников ВОЗ в наблюдательном протоколе GARPEC. В настоящем ретроспективном фармакоэпидемиологическом исследовании проведена оценка рациональности потребления антибиотиков в многопрофильных стационарах субъектов РФ по профилю «педиатрия». Наблюдательное многоцентровое исследование потребления антибиотиков выполнено в субъектах РФ ($n=9$). Оценка потребления выполнялась методом AWaRe, на основании DDD-анализа и перечня ВОЗ основных антибиотиков для детей по группам: «Access» («Доступа»), «Watch» («Контроля»), «Reserve» («Резерв»), «Watch», «Reserve»). Количественный показатель «число дней терапии по группе АТХ J01 Антибактериальные препараты для системного использования» в установленной стандартизированной дозе на 100 пациенто-дней по профилю «педиатрия» в стационарах III уровня в 9 субъектах России за 2021 г. составил 214,93. В России в 2021 г. в среднем каждый из госпитализированных детей по профилю «педиатрия» получал не менее двух антибиотиков за период стационарного лечения. В среднем по России на основе результатов из 9 субъектов РФ препараты категории «Доступа» составляли 44,24%, «Контроля» — 49,23%, «Резерва» — 0,88%. При категоризации по версии WHO2019 были выявлены негативные характеристики — либо избыточное применение цефазолина и амикацина в категории «Доступа», либо преобладание препаратов с антисинегнойной активностью цефтазидима и цефепима в категории «Контроля». Позитивный и более сбалансированный вариант структуры потребления антибиотиков в многопрофильных детских стационарах был выявлен в г. Москве («Доступа» — 37,3%, «Контроля» — 59,29%, «Резерва» — 3,41%), в Республике Марий Эл («Доступа» — 30,28%, «Контроля» — 69,42%, «Резерва» — 0,30%) и в Республике Хакасия («Доступа» — 30,95%, «Контроля» — 67,39%, «Резерва» — 1,66%). Таким образом, ни в одном из представленных в настоящем исследовании многопрофильных детских стационаров России основной показатель оценочной категории потребления антибиотиков у детей «Доступные» «Access» (зелёный) не достиг 60% в 2021 г., предложенный как целевой показатель для достижения рациональности потребления по мнению ВОЗ. Результаты настоящего исследования показали проблемы нерационального применения антибиотиков: недостаточное применение пероральных лекарственных форм у детей; избыточное применение аминогликозидов, необоснованное переключение на комбинированную антимикробную терапию антибиотиками категории «Резерва» в многопрофильных детских стационарах России.

Ключевые слова: педиатрия; антибиотики; потребление антибиотиков в стационаре; категоризация метода WHO AWaRe

Для цитирования: Власова А. В., Куличенко Т. В., Смирнова Е. В., Дымнова Л. В., Волкова Н. Н., Сычев Д. А. Метод WHO AWaRe для анализа клинической практики антимикробной терапии в детских многопрофильных стационарах России. *Антибиотики и химиотерапия*. 2023; 68 (11–12): 38–48. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-38-48>.

Abstract

The new AWaRe classification proposed by WHO for assessing the clinical practice of using antibiotics in adults in 2017 was adapted for children's hospitals in 2019, due to the update of the categorization of antimicrobials, and showed effective-

© Коллектив авторов, 2023

*Адрес для корреспонденции:

E-mail: annavlasova75@mail.ru

© Team of Authors, 2023

*Correspondence to:

E-mail: annavlasova75@mail.ru

tiveness for assessing the rationality of antimicrobials use in children's hospitals in WHO-participating countries in the observation protocol GARPEC. In this retrospective pharmacoepidemiological study, we assessed the rationality of antibiotic consumption in multidisciplinary hospitals in the subjects of the Russian Federation with a pediatric profile. An observational multicenter study of antibiotic consumption was carried out in the constituent entities of the Russian Federation ($N=9$). Consumption assessment was carried out using the AWaRe method, based on DDD analysis and the WHO list of essential antibiotics for children by groups: «Access» (green), «Watch» (yellow) and «Reserve» (red). The quantitative indicator «the number of days of therapy in the ATC group J01 Antibacterial drugs for systemic use» in the established standardized dose per 100 patient days in the pediatric profile in level III hospitals in 9 regions of Russia for 2021 was 214.93. On average, each of the hospitalized pediatric children received at least two antibiotics during the period of hospital treatment in 2021 in Russia. On average, in Russia, based on the results from 9 constituent entities of the Russian Federation, drugs in the «Admission» category were 44.24%, «Control» — 49.23%, «Reserve» — 0.88%. When categorizing according to WHO2019, negative characteristics were identified — either excessive use of cefazolin and amikacin in the «Access» category, or the predominance of drugs with antipseudomonas activity, ceftazidime and cefepime, in the «Watch» groups. A positive and more balanced version of the structure of antibiotic consumption in multidisciplinary children's hospitals was identified in Moscow («Access» — 37.3%, «Watch» — 59.29%, «Reserve» — 3.41%), in the Republic of Mari El («Access» — 30.28%, «Watch» — 69.42%, «Reserve» — 0.30%) and in the Republic of Khakassia («Access» — 30.95%, «Watch» — 67.39%, «Reserve» — 1.66%). Thus, «Access» (green), the main indicator of the assessment category of antibiotic consumption in children, did not reach 60% in 2021 in any of the multidisciplinary children's hospitals in Russia presented in this study, which was proposed as a target indicator for achieving rational consumption according to WHO. The results of this study showed the problems of irrational use of antibiotics: insufficient use of oral dosage forms in children, excessive use of aminoglycosides, unjustified switching to combination antimicrobial therapy with antibiotics of the «Reserve» group in multidisciplinary children's hospitals in Russia.

Keywords: *pediatrics; antibiotics; antibiotic consumption in hospital; AWaRe classification*

For citation: Vlasova A. V., Kulichenko T. V., Smirnova E. V., Dymnova L. V., Volkova N. N., Sichev D. A. WHO AWaRe method for analysis of clinical practice of antimicrobial therapy in children's multidisciplinary hospitals in Russia. *Antibiotiki i Khimioter — Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68 (11–12): 38–48. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-38-48>.

Актуальность

Избыточное и нерациональное потребление АМП ассоциировано с распространённостью проблемы устойчивости микробов к антибиотикам [1, 2]. Как показало 8-летнее исследование клинической практики применения лекарственных препаратов у детей в Европе — АМП оказались наиболее часто применяемыми лекарственными препаратами в амбулаторных условиях [3]. В международных мультицентровых исследованиях у детей в стационарных условиях более четверти госпитализированных детей получали АМП, отмечены значительные различия в клинической практике выбора назначаемых АМП по профилю «педиатрия» в стационарах разных стран [2]. Необходимость унифицированной оценки потребления АМП и разработка программ управления их использования, как основа мониторинга рационального применения АМП в педиатрических стационарах, являются одной из основных целей глобального плана действий ВОЗ по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам (Report of the 21st WHO 2017). Современная ситуация с ростом антибиотикорезистентности меняет подходы и диктует необходимость внедрения оценки клинической практики использования антибактериальных препаратов в стационарах у детей. При анализе потребления антибиотиков была показана возможность применения методики DDD-анализа для детей [4]. Несмотря на общепризнанные ограничения DDD-анализа по стандартизированным дозам в тра-

диционном понимании для детской популяции, метод применяется при анализе электронных рецептов регуляторными органами ВОЗ при работе с регистрами пациентов в Европе, в том числе для оценки потребления антибиотиков у амбулаторных пациентов. В 2017 г. ВОЗ на основе DDD-анализа был предложен метод WHO AWaRe. В 2019 г. после адаптации принципов категоризации перечня АМП данного метода для детской популяции — метод был рекомендован для оценки рациональности потребления АМП в стационарах для детей и выполнены первые наблюдательные исследования оценки практики использования антибактериальных препаратов у госпитализированных педиатрических пациентов в международном проекте GARPEC [2]. Повышение качества управления антимикробной терапией, как медицинская технология в больницах, является одной из основных целей глобального плана мероприятий ВОЗ по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам.

В России по инициативе Минздрава России в рамках проекта НМИЦ по профилю «педиатрия» с 2019 г. проводится организационно-методическое сопровождение субъектов РФ, в том числе оценка практики применения антимикробной фармакотерапии по профилю «педиатрия» в стационарных условиях у детей. Нерешённые аспекты проблемы оценки клинической практики использования АМП в детских стационарах России явились основанием для проведения настоящего исследования и определили цель данной работы.

Цель исследования — проанализировать рациональность потребления антимикробных препаратов в многопрофильных стационарах, оказывающих специализированную медицинскую помощь детям в субъектах РФ по профилю «педиатрия» с применением специальных клинико-фармакологических инструментов.

Материал и методы

Оценка потребления АМП выполнялась методом AWaRe, на основании DDD-анализа и перечня основных лекарственных средств ВОЗ, проведена категоризация АМП для детей на три группы: «Access» — АМП «Доступа» (зелёный), «Watch» — АМП «Контроля» (жёлтый) и «Reserve» — «Резерв» АМП (красный). АМП, не включённые ни в одну из трёх вышеперечисленных групп, были определены как неклассифицированные «Unclassified» (серый). Перечень АМП для категоризации WHO 2019 был взят из нормативных документов ВОЗ и представлен в таблице. Группа «Доступа» (англ. — «Access») содержит, как правило, АМП узкого спектра действия, рекомендуемые в качестве первого и второго ряда при наиболее распространённых инфекционных синдромах, преимущественно имеющие пероральные лекарственные формы. Группа антибиотиков «Контроля» (англ. — «Watch») содержит, как правило, АМП широкого спектра действия, в том числе цефалоспорины, имеющие исключительно парентеральные формы введения для терапии пациентов с серьёзными инфекциями [1]. Группу «Резерва» (англ. — «Reserve») составляют АМП, назначаемые в критических состояниях для целенаправленного применения при инфекциях, вызванных резистентными микроорганизмами [2]. АМП, не включённые ни в одну из трёх вышеперечисленных групп — были определены как неклассифицированные «Unclassified» (серый) категоризации по версии 2019 г., такие как цефалоспорины второго поколения (код АТС: J01DC) и комбинации АМП, существующие в лекарственных формах исключительно для парентерального применения (код АТС: J01RA).

Результаты представлены в виде диаграмм, в процентном соотношении «Access» — АМП «Доступа» (зелёный), «Watch» — АМП «Контроля» (жёлтый) и «Reserve» — «Резерв» АМП (красный) на основе количественной оценки показателя методом DDD-анализа по показателю «Число дней терапии на 100 пациенто-дней» (ЧДТ на 100 пд) по каждому МНН антимикробного препарата для парентеральных и пероральных лекарственных форм отдельно.

Дизайн исследования. Наблюдательное многоцентровое исследование потребления антимикробных препаратов в многопрофильных педиатрических стационарах III уровня выполнено в субъектах РФ Дальневосточного, Приволжского Федеральных округов, Сибирского Федерального округа и Центрального Федерального Округа ($n=9$).

Условия проведения исследования. Организационно-методическое сопровождение проекта проведено с 2020 по 2021 гг. группой экспертов-аналитиков управления НМИЦ по профилю «педиатрия» ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, состоявшей из клинических фармакологов и педиатров. Данные реальной клинической практики оценивались по первичной медицинской документации экспертами-аналитиками во время выездной работы в субъектах РФ и подкреплялись оценкой потребления АМП за предшествующие 2 года группой экспертов-аналитиков, врачей-клинических фармакологов. Данные о потреблении лекарственных препаратов предоставлялись органом управления здравоохранением субъекта РФ в стандартизованных единицах лекарственных форм — ЕСКЛП на основании нормативных документов и положения об организации работы НМИЦ в рамках реализации Национального проекта «Здравоохранение». Региональными органами управления здравоохра-

нением субъектов и стационарами III уровня представлена информация о педиатрических койках, количестве койко-дней, для которых сформирована потребность в АМП за 2 года путём самостоятельного заполнения форм предложенной первоначально базы данных.

Для структурирования информации о потребляемых АМП в стационарах субъектов РФ первоначально была создана реляционная база данных Microsoft Office Excel 2019 и предоставлена региональным органам управления здравоохранением субъектов для заполнения информации о потребности в лекарственных препаратах стационаров III уровня субъектов РФ в единицах измерения потребности ЕСКЛП для каждой лекарственной формы каждого МНН антимикробного лекарственного препарата отдельно. В региональных органах управления здравоохранением субъектов и стационарах III уровня была запрошена информация о структуре коечного фонда и о количестве койко-дней по педиатрическим профилям за 2 года. Предоставление данных экспертам-аналитикам группы по клинической фармакологии НМИЦ о потребности в лекарственных препаратах педиатрических стационаров субъектов РФ выполнено представителями каждого регионального органа управления здравоохранения самостоятельно, путём заполнения формы базы данных, сформированной и направленной предварительно в органы управления здравоохранением субъектов РФ.

Форма базы данных позволяет переводить единицы измерения потребности ЕСКЛП в показатель число дней терапии (ЧДТ, англ. — «daily defined dose» DDD), который пересчитывался на 100 койко-дней с определением для лекарственных препаратов по МНН и лекарственным формам оральными и парентеральными для показателя «Число дней терапии на 100 пациенто-дней» (DDD/100 pd) для стационаров III уровня каждого субъекта, соответственно, на основе данных ATS DDD показателей ВОЗ WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology Norwegian Institute of Public Health. По данным итальянских исследователей, педиатрические суточные стандартизованные дозы (PDDs) приближаются к суточным стандартизованным дозам взрослых (DDD) у детей в возрасте 10 лет и старше [6].

При оценке качества допущенных к проведению фармако-эпидемиологического анализа данных оценивалась потребность за 2 года (2020–2021 гг.) в единицах измерения потребности ЕСКЛП для каждой лекарственной формы каждого МНН антимикробного лекарственного препарата отдельно, принимались данные по сопоставимым и воспроизводимым показателям для каждого МНН, результат оценки потребности в АМП препаратах представлен за 1 год — 2021 г. по профилю «педиатрия» в стационарах III уровня в субъектах России.

Целевые показатели исследования

Основной показатель исследования. Интерпретация при категоризации АМП по методу AWaRe применена в виде «светового индикатора» соответствующего использованию антибиотиков для обозначения различных категорий: антибиотики доступа (зелёный), антибиотики контроля (жёлтый) и резерва (красный). Категоризация АМП для метода WHO AWaRe проводилась на основе перечня АМП для детей по версии WHO 2019, представленной в таблице. Целевые нормативные показатели по ВОЗ определены для категории «Access» — 60%, обсуждается соотношение для препаратов категории «Watch» в интервале до 40% (35–40%) и группа «Reserve» в интервале не более 5% [2]. Основной показатель для расчёта % соотношения для АМП в структуре для удельного веса каждой категории доступа (зелёный), антибиотики контроля (жёлтый) и резерва (красный) рассчитывался методом DDD-анализа по показателю «число дней терапии по каждому МНН АМП из АТХ J01 Антибактериальные препараты для системного использования» в пересчёте на 100 пациенто-дней (далее — ЧДТ по МНН на 100 п/д) отдельно для парентеральных и пероральных лекарственных форм по профилю «педиатрия».

Дополнительный показатель исследования. Для каждого субъекта РФ методом DDD-анализа рассчитывали суммарный количественный показатель «число дней терапии по группе АТХ J01 Антибактериальные препараты для системного использования» на 100 пациенто-дней (ЧДТ по группе АТХ J01 на 100 п/д) отдельно для парентеральных и пероральных лекарственных форм по профилю «педиатрия» в стационарах III уровня.

Методы измерения целевых показателей. Целевой показатель количественной характеристики потребления АМП рассчитывался с применением метода DDD-анализа на основе данных ATS DDD показателей ВОЗ WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology Norwegian Institute of Public Health. Полученные из субъектов данные о потребности в ЕСКЛП по каждой лекарственной форме были переведены в курсовые дозы для каждой лекарственной формы перорального и парентерального применения по МНН с расчётом количественного показателя «число дней терапии по группе АТХ J01 Антибактериальные препараты для системного использования» на 100 пациенто-дней (ЧДТ по группе АТХ J01 на 100 п/д) по профилю «педиатрия» в стационарах III уровня в 9 субъектах России за 2021 г., дополнительно проводился расчёт показателя «число дней терапии на 100 пациенто-дней» по МНН с разделением на лекарственные формы с пероральным и парентеральным способом применения.

Доля антибиотиков в каждой категории AWaRe была рассчитана как число дней терапии на 100 пациенто-дней в группе антибиотиков «Доступа», «Контроля» или «Резерва» для флагманских стационаров каждого субъекта РФ в группе наблюдения и для стационара сравнения. Результаты представлены в виде диаграмм, в процентном соотношении «Access» — АМП «Доступа» (зелёный), «Watch» — АМП «Контроля» (жёлтый) и «Reserve» — «Резерв» АМП (красный) на основе количественной оценки показателя методом DDD-анализа по показателю «Число дней терапии на 100 пациенто-дней» (ЧДТ на 100 пд) по каждому антимикробному препарату.

Статистические процедуры. Все расчёты проводились в рамках методологии проведения DDD-анализа. Модели использования антибиотиков в стационарах III уровня описаны по методу AWaRe, используя коэффициент выписки лекарственных препаратов 90%, определяемый как количество антибиотиков, на которые приходится 90% от общего количества назначенных антибиотиков [7].

Этическая экспертиза. Анализ потребления АМП в многопрофильных детских стационарах выполнен в соответствии с ежегодным планом НМИЦ по профилю «педиатрия», утверждённым Минздравом России, в соответствии с действующими нормативными документами. Оценочные процедуры включали выборочный аудит медицинских карт стационарного больного на момент визита в стационары III уровня с обезличиванием персональных данных и изучение потребности лекарственных препаратов по электронным документам учёта работы стационара за год, инструменты анализа не связаны с выполнением вмешательств и не затрагивают непосредственно пациента, поэтому этическая экспертиза не требовалась.

Данная публикация выполняется в рамках диссертационной работы, одобренной этическим комитетом ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ» и этическим комитетом ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Результаты исследования

Формирование выборки исследования. Для структурирования информации потребления лекарственных препаратов в стационарах, включённых в исследование, была создана реляционная база данных в компьютерной системе

разработки баз Microsoft Office Excel 2019. Подобный способ представления данных позволяет переводить ЕСКЛП в число дней терапии (DDD) по общепринятой методике, согласно ВОЗ (WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology Norwegian Institute of Public Health). Расчёт базового показателя потребления проводился с учётом расчётного показателя на 100 пациенто-дней по педиатрическим отделениям соответствующих стационаров в субъекте.

При оценке качества АМП допущенных к проведению анализа данных оценивалась потребность за 2 года (для подтверждения воспроизводимости потребности), результат комплексной оценки базовой потребности в АМП препаратах представлялся на 1 год по профилю «педиатрия» в стационарах III уровня в субъектах России. В анализ были включены данные, при условии воспроизводимости за 2 года по потребности и соответствия при получении результата сопоставления с клинической практикой на выездных мероприятиях в рамках проекта НМИЦ по профилю «педиатрия» в 2021 г.

Характеристики выборки (групп) исследования. Сравнительная оценка потребления и рациональности использования АМП по профилю «педиатрия» в якорных стационарах субъектов РФ проведена на основе DDD-анализа. Как представлено на рис. 1., самые высокие количественные показатели потребления АМП в детских стационарах были выявлены в 2021 г. в Самарской области и Удмуртии (ЧДТ — 1073,47 и 505,45 на 100 п/д, соответственно), более низкие показатели были в Республике Хакасия и Амурской области (ЧДТ 101,27 и 95,83 на 100 п/д, соответственно). Наименьшие количественные показатели потребления АМП были в Нижнем Новгороде (ЧДТ 15,2 на 100 п/д), в г. Москве (ЧДТ составило 25,4 на 100 п/д). Количественный показатель потребления АМП в Сахалинской области составил 32,14 ЧДТ на 100 п/д, Республике Марий-Эл — 33,23 ЧДТ на 100 п/д, более высокий показатель выявлен в Чукотском АО — 53,40 ЧДТ на 100 п/д.

Качественные показатели структуры потребления АМП в якорных стационарах субъектов РФ в 2021 г. были получены на основе DDD-анализа методом WHO AWaRe. В среднем по России на основе результатов из 9 субъектов РФ препараты категории «Доступа» (англ. — «Access») составляли 44,24%, препараты категории «Контроля» (англ. — «Watch») составляли 49,23%, препараты «Резерва» (англ. — «Reserve») составили — 0,88%.

Оценка рациональности потребления АМП методом WHO AWaRe в многопрофильных детских стационарах России представлена на рис. 2. В среднем по России на основе результатов из 9 субъектов РФ препараты категории «Доступа»

Категоризация антимикробных препаратов по МНН для метода AWaRe по критериям WHO 2019 [1, 5]
Categorization of antimicrobial drugs by INN for the AWaRe classification according to WHO 2019 criteria [1, 5]

Лекарственные препараты, МНН	Категоризация AWaRe
Азитромицин	Watch
Амикацин	Access
Амоксициллин	Access
Амоксициллин + клавулановая кислота	Access
Ампициллин+сульбактам	Access
Ванкомицин	Watch
Имипенем + циластатин	Watch
Кларитромицин	Watch
Клиндамицин	Access
Ко-тримоксазол	Access
Колистиметат натрия/полимиксин	Reserve
Левифлоксацин	Watch
Линезолид	Reserve
Медикамицин	Watch
Меропенем	Watch
Метронидазол	Access
Моксифлоксацин	Watch
Пиперациллина тазобактам	Watch
Полимиксин в	Reserve
Тигециклин	Reserve
Фосфомицин	Reserve
Фуразидин	Access
Цефазолин	Access
Цефепим	Watch
Цефиксим	Watch
Цефоперазон + сульбактам	Watch
Цефотаксим	Watch
Цефтазидим	Watch
Цефтазидим+[авибактам]	Reserve
Цефтриаксон	Watch
Цефуроксим	Watch
Ципрофлоксацин	Watch
Эртапенем	Watch
Цефотаксим сульбактам	Unclassified
Цефепим сульбактам	Unclassified

(англ. — «Access») составляли 44,24%, препараты категории «Контроля» (англ. — «Watch») составляли 49,23%, препараты «Резерва» (англ. — «Reserve») составили — 0,88%.

Для изучения особенностей категоризации АМП методом WHO AWaRe по рекомендациям ВОЗ 2019 г., мы провели анализ внутри выделенных категорий «WHO» (англ. — «Access»), «Контроля» (англ. — «Watch») и «Резерва» (англ. — «Reserve»). При сравнительной оценке внутри каждой категории АМП были обнаружены некоторые особенности — так называемые паттерны, позволяющие понять закономерности данного метода, необходимые для формирования оценочного суждения о рациональности сложившейся клинической практики антимикробной терапии в многопрофильных детских стационарах в том или ином субъекте РФ. Для этого проведён анализ потребления АМП по МНН.

Согласно представленным данным на рис. 3, структура потребления АМП в якорных стационарах субъектов РФ в 2021г. методом WHO AWaRe позволила выделить 3 паттерна:

Первый паттерн характеризовался превышением целевого норматива ВОЗ 60% для категории АМП «Доступа». Подобная закономерность была выявлена в многопрофильных стационарах Самарской области (категории «Доступа» — 74,89%, «Контроля» — 25,04%, «Резерва» — 0,07%) и Сахалинской области (категории «Доступа» — 74,78%, «Контроля» — 24,98%, «Резерва» — 0,24%). В Амурской области превышение целевого норматива ВОЗ для категории АМП «Доступа» составило 73,45% и сочеталось со значительным преобладанием категории «Резерва» — 7,15%, по сравнению с иными субъектами, АМП категории «Контроля» составили 19,39%.

Как представлено на рис. 3., при оценке каждого МНН в структуре потребления АМП категории «Доступа» преобладали АМП, имеющие исключительно парентеральные лекарственные формы. Как показано на рис. 3, в стационарах III уровня Самарской области в 2021 г. преобладало потребление парентеральных лекарственных форм цефазолина — 554,67 ЧДТ на 100 пациенто-дней (п-д), в Амурской и Сахалинской области преобладало потребление Амикацина (60,75 и 18,74 ЧДТ на 100 п-д, соответственно). Несмотря на высокий показатель клинической практики потребления АМП категории «Доступа», в структуре МНН преобладали АМП, имеющие исключительно парентеральные лекарственные формы, подобный подход не может считаться надлежащим для пациентов по профилю «педиатрия» и был отнесён нами к негативным индикаторам.

Второй паттерн структуры потребления АМП характеризовался значительным преобладанием АМП категории «Контроля» — более 88%. Как представлено на рис. 2, значительное преобладание в структуре потребления АМП категории «Контроля» было выявлено в Чукотском АО («Доступа» — 0,54%, «Контроля» — 99,46%, «Резерва» — 0%), в Республике Удмуртия («Доступа» — 2,83%, «Контроля» — 95,88%, «Резерва» — 1,30%) и в Нижнем Новгороде («Доступа» — 10,99%, «Контроля» — 88,57%, «Резерва» — 0,44%).

Как представлено на рис. 4. при оценке структуры потребления АМП по МНН в категории «Контроля» преобладали парентеральные АМП, характеризующиеся антисинегнойной активностью. Паттерн второго вида структуры потребления АМП в стационарах III уровня характеризовался в Республике Удмуртия преобладанием потребления бета-лактамов с антисинегнойной активностью — цефтазидима 237,55 ЧДТ на 100 п-д и пиперациллина / тазобактама 219,34 ЧДТ на 100 п/д, в Чукотской АО преобладанием цефе-



Рис. 1. Результаты количественной оценки потребления АМП методом DDD-анализа в многопрофильных детских стационарах субъектов РФ за 2021 г.

Fig. 1. Results of quantitative assessment of antimicrobials consumption using the DDD analysis method in multidisciplinary children's hospitals in the constituent entities of the Russian Federation for 2021.

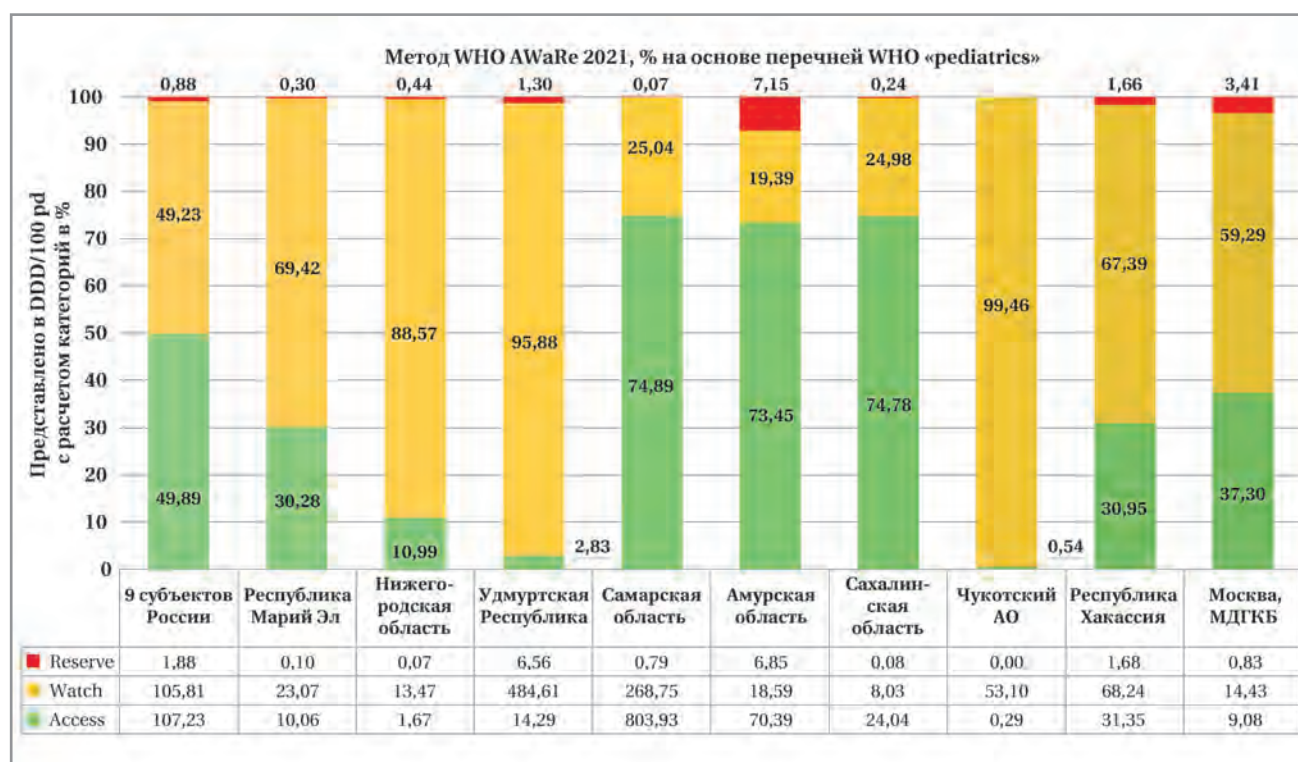


Рис. 2. Результаты оценки рациональности потребления АМП методом AWaRe категоризации в версии WHO 2019 в многопрофильных детских стационарах субъектов РФ за 2021 г.

Fig. 2. Results of assessing the rationality of antimicrobials consumption using the AWaRe classification in the WHO 2019 version in multidisciplinary children's hospitals in the constituent entities of the Russian Federation for 2021.

пима — 52,70 ЧДТ на 100 п/д, в Нижегородской области — преобладаем потребления пиперациллина тазобактама и цефотаксима (6,84 и 4,23 ЧДТ на 100 п/д, соответственно). Поэтому второй паттерн структуры потребления АМП со значительным преобладанием категории «Контроля» — более 88% также был охарактеризован нами как негативный индикатор клинической практики потребления АМП, подобный подход также не может считаться надлежащим для пациентов по профилю «педиатрия».

Третий паттерн структуры потребления АМП, как представлено на рис. 2, характеризовался сбалансированным соотношением всех трёх категорий АМП. Подобная структура потребления АМП была выявлена в г. Москве («Доступа» — 37,3%, «Контроля» — 59,29%, «Резерва» — 3,41%), в Республике Марий Эл («Доступа» — 30,28%, «Контроля» — 69,42%, «Резерва» — 0,30%) и в Республике Хакасия («Доступа» — 30,95%, «Контроля» — 67,39%, «Резерва» — 1,66%).

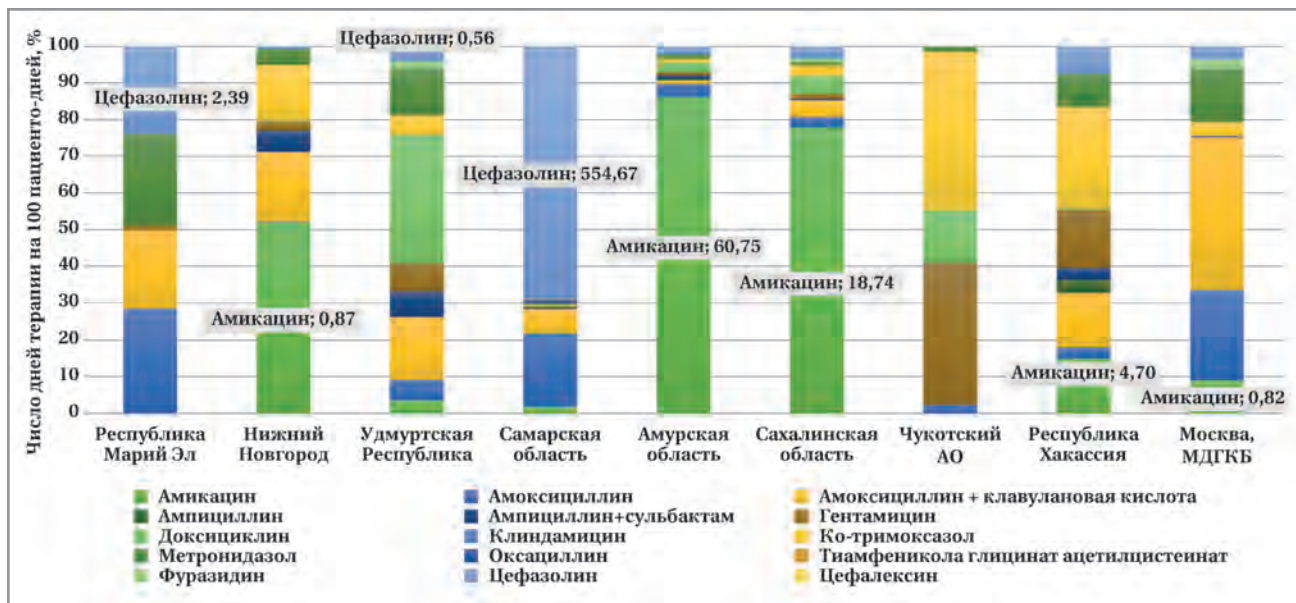


Рис. 3. Характеристика преобладающих МНН для АМП категории «Доступа» при 1 паттерне для WHO AWaRe в многопрофильных детских стационарах субъектов РФ за 2021 г.

Fig. 3. Characteristics of the prevailing INN for antimicrobials of the «Access» group with the 1st pattern for AWaRe classification in multidisciplinary children's hospitals in the constituent entities of the Russian Federation for 2021.

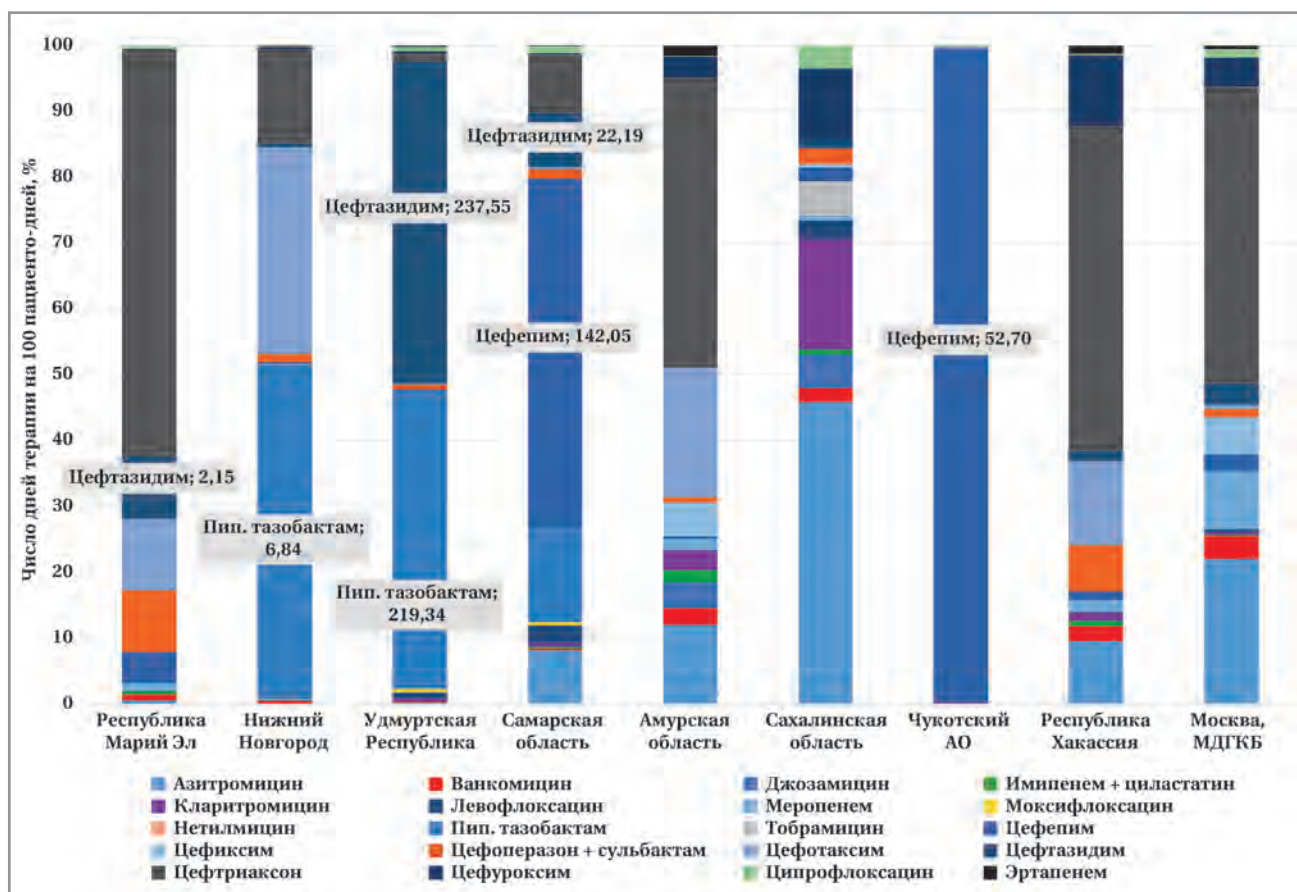


Рис. 4. Характеристика преобладающих МНН для АМП категории «Контроля» при 2 паттерне для WHO AWaRe в многопрофильных детских стационарах субъектов РФ за 2021 г.

Fig. 4. Characteristics of the prevailing INN for antimicrobials of the «Watch» group, the 2nd pattern of AWaRe classification, in multidisciplinary children's hospitals in the constituent entities of the Russian Federation for 2021.

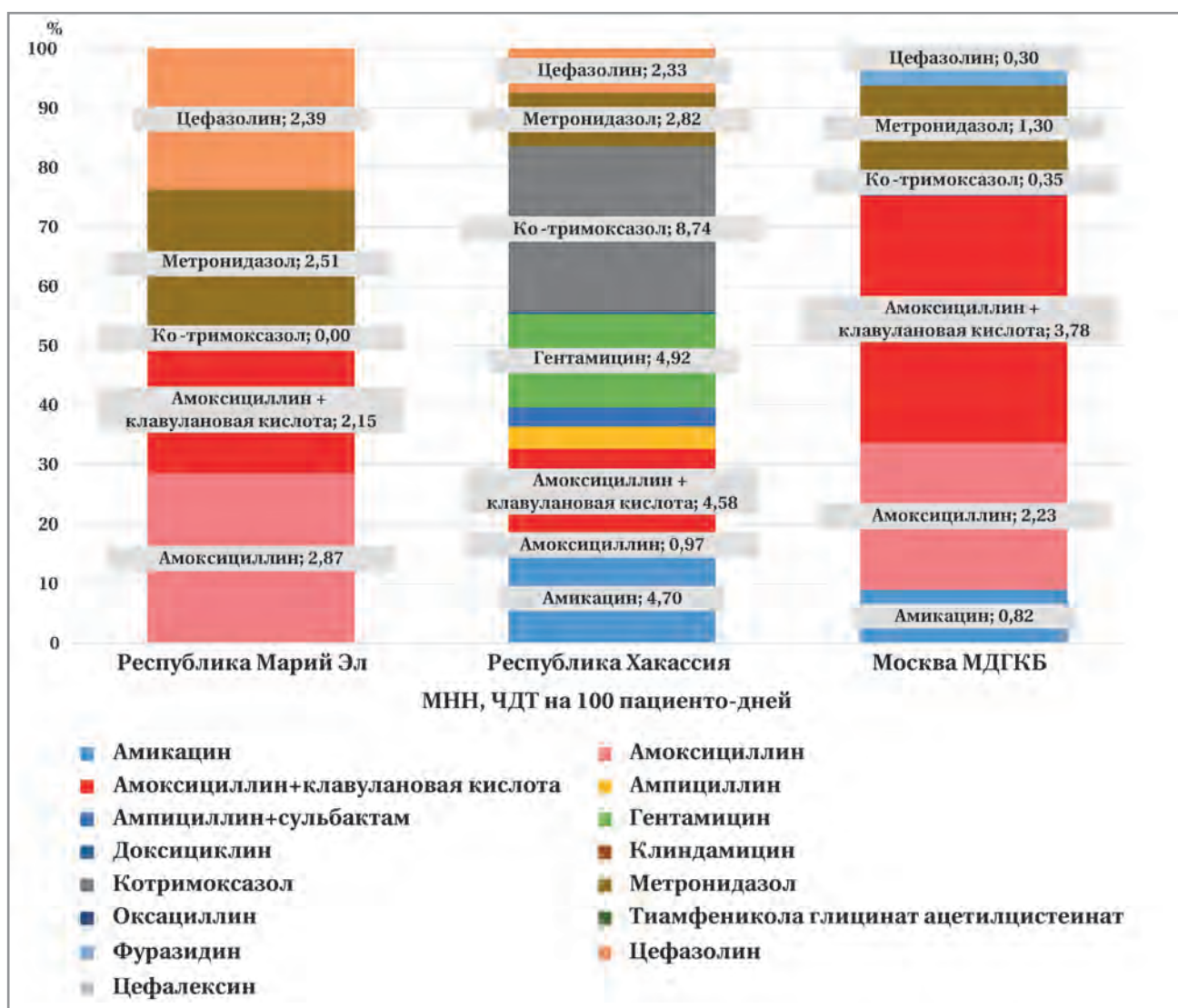


Рис. 5. Структура МНН в категории «Доступа» третьего паттерна рациональности потребления АМП методом WHO AwaRe в многопрофильных детских стационарах субъектов РФ за 2021 г.

Fig. 5. Structure of INN in the «Access» category, the 3rd pattern of rational consumption of antimicrobials using the AwaRe classification, in multidisciplinary children's hospitals in the constituent entities of the Russian Federation for 2021.

Третий вариант паттерна отличался от первых двух паттернов разнообразием спектра потребляемых АМП по международным непатентованным наименованиям (МНН) для АМП в категории «Доступа», как представлено на рис. 5 спектр МНН в данной категории составлен из 12 МНН АМП.

Основные результаты исследования. Количественный показатель «число дней терапии по группе АТХ J01 Антибактериальные препараты для системного использования» на 100 пациенто-дней по профилю «педиатрия» в стационарах III уровня в 9 субъектах России за 2021 г. составил 214,93.

Количественная оценка потребления АМП в стационарах III уровня педиатрического профиля

в субъектах России методом DDD-анализа за 2021 г. показала различия по показателю ЧДТ по группе АТХ J01 на 100 п/д в 70,6 раз, так для Самарской области по ЧДТ на 100 п/д составило 1073,47, для Нижнего Новгорода — 15,2 ЧДТ на 100 п/д.

В среднем по России на основе результатов из 9 субъектов РФ препараты категории «Доступа» (англ. — «Access») составляли 44,24%, препараты категории «Контроля» (англ. — «Watch») составляли 49,23%, препараты «Резерва» (англ. — «Reserve») составили — 0,88%.

Дополнительные результаты исследования. При анализе клинической практики потребления АМП в многопрофильных стационарах для детей в субъектах РФ нами выявлены ограничения категоризации АМП по версии WHO 2019 метода

WHO AWaRe для оценки клинической практики применения АМП по профилю «педиатрия» в РФ:

Выявлен негативный 1-й вариант паттерна при оценке в категории АМП «Доступа» при применении версии WHO 2019: в данную категорию АМП для детей при категоризации ВОЗ внесены Цефазолин и Амикацин. Оба лекарственных препарата имеют только парентеральный путь введения, их применение не является рациональным по профилю «педиатрия», поэтому их включение в категорию АМП «Доступа» не может быть признано рациональным для многопрофильного детского стационара. Поэтому 1-й негативный паттерн можно улучшить внесением изменений в существующую категоризацию ВОЗ версии WHO 2019, при этом, если Цефазолин можно рассмотреть для включения в категорию «Контроля» на основании исключительно парентерального пути введения, то Амикацин следует отнести в категорию «Резерва».

Выявлен негативный 2-й вариант паттерна при оценке в категории АМП «Контроля», при применении категоризации по версии WHO 2019 на примере многопрофильных детских стационаров России в настоящем исследовании: в категорию «Контроля» преобладали препараты с антисинегнойной активностью — Цефтазидим и Цефепим, что не может быть считаться рациональным потреблением АМП для многопрофильных детских стационаров в РФ.

Третий вариант паттерна отличался от первых двух паттернов разнообразием спектра потребляемых АМП для категории «Доступа», как представлено на рис. 5 спектр АМП в данной категории состоит из 12 препаратов. Третий паттерн следует рассматривать как позитивный и целевой вариант структуры потребления АМП в многопрофильных детских стационарах РФ. Особенностью структуры потребления, характеризующей 3-й паттерн при категоризации по версии WHO 2019: в категории «Доступа» в многопрофильном стационаре представлен разнообразный спектр АМП, в том числе АМП с пероральными лекарственными формами, что характеризует наиболее рациональный подход к клинической практике при оценке потребления АМП. Подобная наиболее рациональная структура потребления АМП была выявлена в г. Москве («Доступа» — 37,3%, «Контроля» — 59,29%, «Резерва» — 3,41%), в Республике Марий Эл («Доступа» — 30,28%, «Контроля» — 69,42%, «Резерва» — 0,30%) и в Республике Хакасия («Доступа» — 30,95%, «Контроля» — 67,39%, «Резерва» — 1,66%).

Обсуждение

Резюме основного результата исследования. Количественный показатель «число дней терапии по группе ATX J01 Антибактериальные препараты

для системного использования» на 100 пациенто-дней по профилю «педиатрия» в стационарах III уровня в 9 субъектах России за 2021 г. составил 214,93. Данный результат может означать, что в России в 2021 г. в среднем каждый из госпитализированных детей по профилю «педиатрия» получал не менее двух АМП за период стационарного лечения. Количественная оценка потребления АМП в стационарах III уровня педиатрического профиля в субъектах России методом DDD-анализа за 2021г. показала различия по показателю ЧДТ по группе ATX J01 на 100 п/д в 70,6 раз, так для Самарской области по ЧДТ на 100 п/д составило 1073,47, для Нижнего Новгорода — 15,2 ЧДТ на 100 п/д, что указывает на значительные различия в клинической практике применения АМП для однородной структуры заболеваний по профилю «педиатрия».

В среднем по России на основе результатов из 9 субъектов РФ препараты категории «Доступа» (англ. — «Access») составляли 44,24%, препараты категории «Контроля» (англ. — «Watch») составляли 49,23%, препараты «Резерва» (англ. — «Reserve») составили — 0,88%.

Ограничения исследования. С учётом сопоставимости и воспроизводимости полученных данных по потребности в АМП и клинической практики назначения лекарственных препаратов в якорных стационарах субъектов, данные заявленной потребности в АМП оценивались как показатели потребления в АМП, терминологическими различиями в рамках изучения клинической практики было решено пренебречь, что ограничивает, но не умаляет полученные результаты настоящего наблюдательного исследования.

Заключение

По результатам анализа ни в одном из якорных стационаров из представленных субъектов РФ основной показатель оценочной категории потребления антибиотиков у детей «Доступные» («Access» зелёный) не достиг целевых 60%, что указывает на необходимость дальнейших мероприятий по внедрению надлежащих принципов управления антимикробной терапией в педиатрических стационарах России. Так же общие показатели потребности в АМП в субъектах РФ значительно превышают уровень потребления АМП у детей в Европе. По мнению ВОЗ, будущие усилия должны быть сосредоточены на разработке и оценке программ управления педиатрическими антибиотиками на основе критерия AWaRe и высказано предложение к формированию принципов при участии экспертов по АМТ у детей [8]. Основные направления для улучшения должны быть определены как необходимость приоритета применения пероральных лекарственных форм у детей,

прекращение практики избыточного применения аминогликозидов, переоценка серьезности показаний к комбинированной антимикробной терапии и исключение необоснованного переключения на приём препаратов резерва.

По нашему мнению, существующая категоризация по версии WHO 2019 метода AWaRe имеет серьезные ограничения при оценке рациональности потребления АМП в многопрофильных детских стационарах субъектов РФ. Так, в категорию «Доступа» входят аминогликозиды и парентеральные цефалоспорины I поколения, в категорию «Контроля» включены антисинегнойные цефалоспорины, что не соответствует клинической практике назначения АМП 1 и 2 линии на основе отечественных клинических рекомендаций в России 2019–2021 гг.: «Острый бронхит», «Инфекция мочевых путей у детей», «Острый тонзиллит и фарингит (Острый тонзиллофарингит)», «Острый средний отит», «Острый синусит», «Пневмония (внебольничная)».

Существующие критерии метода AWaRe категоризации WHO 2019 не вполне отражают особенности применения АМП у детей по профилю «педиатрия» старше 1 мес. жизни. Дальнейшая работа должна быть сосредоточена на оптимизации и корректировке категоризации, направленная на оптимизацию перечней АМП в соответствии с конкретными условиями целевой выборки, включая нозологию и возраст детей. Требуется адаптация и настройка категоризации метода AWaRe для применения в многопрофиль-

ных детских стационарах России с пересмотром категорий АМП на основе существующих клинических рекомендаций с контролем включения лекарственных препаратов 1, 2 линии, альтернативных и резервных АМП.

Дополнительная информация

Выражение признательности. Авторы выражают слова признательности коллективам сотрудников, предоставивших данные в рамках проекта и участвовавших в проведении выездных мероприятий: ГАУЗ АО «Амурская областная детская клиническая больница» (главный врач — Белоус Руслан Алексеевич), АОГБУЗ «Чукотская окружная больница» (главный врач Острась Марина Алексеевна), ГБУЗ «Областная детская больница» (г. Южно-Сахалинск) (главный врач Лариса Юрьевна Фатеева), ГБУЗ НО «Нижегородская областная детская клиническая больница» (главный врач Кондратьева Инна Юрьевна), БУЗ УР «Республиканская детская клиническая больница МЗ УР» (главный врач Пупков Павел Витальевич), ГБУ Республики Марий Эл «Детская республиканская клиническая больница» (главный врач Груздев Дмитрий Владимирович), ГБУЗ РХ «Республиканская детская клиническая больница» (главный врач Кузнецова Татьяна Алексеевна).

Источник финансирования. Отсутствует.

Конфликт интересов. Все соавторы подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Литература/References

1. Paulussen A., Lavrijsen K., Bohets H. et al. Two linked mutations in transcriptional regulatory elements of the CYP3A5 gene constitute the major genetic determinant of polymorphic activity in humans. *Pharmacogenetics*. 2000 Jul; 10 (5): 415–424. PMID: 10898111. doi: 10.1097/00008571-200007000-00005.
2. Hsia Y., Lee B.R., Versporten A. et al. GARPEC and Global-PPS networks. Use of the WHO Access, Watch, and Reserve classification to define patterns of hospital antibiotic use (AWaRe): an analysis of pediatric survey data from 56 countries. *Lancet Glob Health*. 2019 Jul; 7 (7): e861–e871. doi: 10.1016/S2214-109X(19)30071-3.
3. Iannelli V. 30 Most commonly prescribed pediatric medications. Medically reviewed by Jassey J.B., Available at: <https://www.verywellhealth.com/the-30-most-prescribed-drugs-in-pediatrics-2633435>. Accessed: 21 Oct 2022.
4. Сычев Д.А., Остроумова О.Д., Переверзев А.П. Лекарственно-индуцированные заболевания. Монография. М.: Прометей, 2022; 540.

Информация об авторах

Власова Анна Викторовна — к. м. н., заведующая отделом клинической фармакологии ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения города Москвы», эксперт-аналитик управления функций НМИЦ по педиатрии ФГАУ НМИЦ РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России; доцент кафедры клинической фармакологии и терапии им. академика Б. Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-5272-2070. eLibrary SPIN: 5248-6411

About the authors

Anna V. Vlasova — Ph. D. in Medicine, Head of Clinical Pharmacology Department, Morozov Children's City Clinical Hospital; Expert Analyst of the National Medical Research Center of Pediatricians, Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; Associate Professor of the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B. E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-5272-2070. eLibrary SPIN: 5248-6411

Куличенко Татьяна Владимировна — д. м. н., профессор РАН, начальник управления функций НМИЦ по педиатрии ФГАУ НМИЦ РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-3523-5411. eLibrary SPIN: 9054-4560

Смирнова Елена Викторовна — врач-клинический фармаколог ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница ДЗМ»; эксперт-аналитик управления функций НМИЦ по педиатрии ФГАУ НМИЦ РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-4382-462X. eLibrary SPIN: 2425-1341

Волкова Надежда Николаевна — врач-клинический фармаколог ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница ДЗМ» Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-5821-9468. eLibrary SPIN: 2602-5598

Дымнова Лилия Владимировна — юрисконсульт ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница ДЗМ» Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-4815-3204. eLibrary SPIN: 7808-5359

Сычев Дмитрий Алексеевич — д. м. н., профессор РАН, академик РАН, ректор; заведующий кафедрой клинической фармакологии и терапии им. академика Б. Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-4496-3680. eLibrary SPIN: 4525-7556

Tatiana V. Kulichenko — D. Sc. in Medicine, Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of the National Medical Research Center of Pediatricians, Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-3523-5411. eLibrary SPIN: 9054-4560

Elena V. Smirnova — Clinical Pharmacologist of Morozov Children's City Clinical Hospital; Expert Analyst of the National Medical Research Center of Pediatricians, Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-4382-462X. eLibrary SPIN: 2425-1341

Volkova N. Nadezda — Clinical Pharmacologist of Morozov Children's City Clinical Hospital, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-5821-9468. eLibrary SPIN: 2602-5598

Dymnova V. Liliya — Legal adviser of Morozov Children's City Clinical Hospital, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-4815-3204. eLibrary SPIN: 7808-5359

Dmitry A. Sychev — D. Sc. in Medicine, Professor of the Russian Academy of Sciences, Academician of the Russian Academy of Sciences, Rector; Head of the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B. E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-4496-3680. eLibrary SPIN: 4525-7556

Методология создания системы управления рисками возникновения межлекарственных взаимодействий

*А. А. ТАУБЭ¹, М. В. ЖУРАВЛЕВА^{1,2}

¹ ФНБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», Москва, Россия

² ФГБОУ ВО Первый московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, Россия

Methodology for Creating a Risk Management System for Drug-Drug Interactions

*ALEKSANDRA A. TAUBE¹, MARINA V. ZHURAVLEVA^{1,2}

¹ Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Резюме

Межлекарственные взаимодействия (DDI) являются серьёзной причиной госпитализации, отвечая за 16,6% случаев, когда причиной был ADR, и около 1% всех госпитализаций. Полипрагмазия получает всё более широкое распространение. Так шведское популяционное исследование лиц в возрасте ≥ 75 лет показало, что распространённость полипрагмазии увеличилась с 27% в 1988 г. до 54% в 2001 г. и до 65% в 2006 г. Цель. Анализ баз данных по DDI и последующая оценка возможности их применения для управления рисками фармакотерапии в РФ и ЕАЭС. Результаты. Охарактеризованы основные базы данных по DDI. Определена степень несогласованности данных по количеству DDI, степени тяжести и клиническим рекомендациям. Сформулированы основные требования, предъявляемые к полноте информации в базах данных. Выявлено, что необходимо гармонизировать подходы к предоставлению информации о DDI, а также потребность в создании локальных баз данных для нужд медицинских организаций. Создана программа для ЭВМ, предназначенная для минимизации рисков возникновения DDI в клинической практике, для экспертных и научных целей. Заключение. Базы данных и программы по DDI имеют различные цели, различный набор данных о DDI с различной степенью доказательств, различия в оценке степени тяжести, вероятности возникновения, клинических рекомендациях по терапии и коррекции DDI. Вариативность сведений обусловлена отсутствием единой системы оценки тяжести и вероятности наступления потенциальных негативных последствий DDI; различными целями при создании; разницей в бюджетах при создании. Такая ситуация приводит к избыточности предупреждений и усталости врачей от незначимых или недоказанных DDI. На основании выявленных требований к локальным базам данных создана и получила свидетельство о государственной регистрации программа для ЭВМ для моделирования рациональной фармакотерапии при инфекциях нижних дыхательных путей.

Ключевые слова: фармакотерапия; межлекарственные взаимодействия; нежелательная реакция; система поддержки принятия клинических решений; базы данных по лекарственным взаимодействиям

Для цитирования: Таубэ А. А., Журавлева М. В. Методология создания системы управления рисками возникновения межлекарственных взаимодействий. *Антибиотики и химиотер.* 2023; 68 (11–12): 49–58. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-49-58>.

Abstract

Drug-drug interactions (DDIs) are a major cause of hospital admissions, accounting for 16.6% of ADRs and about 1% of all hospital admissions. Polypharmacy is on the rise, with a Swedish population-based study of people aged ≥ 75 years showing that the prevalence of polypharmacy increased from 27% in 1988 to 54% in 2001 and to 65% in 2006. The aim of the study was to analyze the databases on DDI and to assess the possibility of their use in managing the risks of pharmacotherapy in the Russian Federation and the EAEU. Results. The main DDI databases are characterized. The degree of inconsistency in data on the number of DDI, severity and clinical recommendations was determined. The basic requirements for the completeness of information in databases are formulated. The necessity to harmonize approaches to providing information about DDI, as well as the need to create local databases for medical organizations were revealed. A computer program has been created to minimize the risks of DDI in clinical practice, for expert and scientific purposes. Conclusions. Databases and programs for DDI have different goals, a different set of data on DDI with varying degrees of evidence, differences in assessment of severity, likelihood of occurrence, clinical recommendations for treatment and correction of DDI. The variability of information is due to the lack of a unified system for assessing the severity and likelihood of potential negative consequences of DDI; different purposes for creation; difference in budgets at creation. This situation leads to warning re-

© А. А. Таубэ, М. В. Журавлева, 2023

*Адрес для корреспонденции: Петровский бульвар, д. 8, стр. 2, НЦЭСМП, г. Москва, Россия, 127051.
E-mail: taubeaa@expmed.ru

© А. А. Taube, M. V. Zhuravleva, 2023

*Correspondence to: 8 bld 2 Petrovsky Boulevard, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, 127051 Russia. E-mail: taubeaa@expmed.ru

dundancy and physician fatigue from insignificant or unproven DDIs. Based on the identified requirements for local databases, a computer program for modeling rational pharmacotherapy for lower respiratory tract infections was created and received a certificate of state registration.

Keywords: *pharmacotherapy; drug-drug interactions; adverse reaction; clinical decision support system; drug interaction databases*

For citation: Таубэ А. А., Журавлева М. В. Методология создания системы управления рисками возникновения межлекарственных взаимодействий. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68 (11–12): 49–58. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-49-58>.

Введение

Комбинированная фармакотерапия предусмотрена современными стандартами лечения и часто не имеет альтернативы. Согласно исследованиям [1, 2] более чем каждый третий человек в Великобритании в возрасте 60 лет и старше принимает как минимум пять ЛП одновременно, при этом более трети всех людей старше 80 лет принимают восемь или более ЛП. Полипрагмазия получает всё более широкое распространение. Так, шведское популяционное исследование лиц в возрасте старше 75 лет показало, что распространённость полипрагмазии увеличилась с 27% в 1988 г. до 54% в 2001 г. и до 65% в 2006 г. [3]. Одновременное применение нескольких препаратов увеличивает риск межлекарственного взаимодействия (DDI). Подсчитано, что DDI являются серьёзной причиной госпитализации, отвечая за 16,6% случаев, когда причиной были ADR, и около 1% всех госпитализаций [1, 4]. DDI может быть определено как изменение терапевтического эффекта одного или нескольких лекарственных препаратов (ЛП) в результате присутствия сопутствующих ЛП и может привести к клинически значимым явлениям, вызванным либо усилением эффекта взаимодействующего ЛП, что приводит к побочному действию ЛП или снижению его эффекта, что приводит к отсутствию эффективности [1, 5]. Исследования фармакологии, фармакокинетики и фармакодинамики исторически включали экспериментальные подходы с одним ЛП. Только в конце 1970-х годов возникло признание того, что клинические нежелательные явления могут быть вызваны взаимодействием между ЛП [6].

DDI являются предотвратимой причиной возникновения нежелательных реакций [7]. Регуляторные органы требуют, чтобы при разработке ЛП изучался потенциал возможных DDI в клинической практике [8]. Подтверждённые в клинических исследованиях DDI включаются в инструкцию по медицинскому применению (ИМП) и листок-вкладыш (ЛВ) в разделы: «Взаимодействие с другими лекарственными препаратами», «С осторожностью» и «Особые указания». Но информирование врачей по возникновению DDI в силу различных причин не может быть осу-

ществлено только в рамках ИМП и ЛВ. Стратегии по уменьшению нежелательных DDI в клинической практике отстают от действий, предпринятых в процессе предварительного утверждения ЛП для прогнозирования и подтверждения лекарственных взаимодействий [6]. При анализе DDI необходимо также оценивать вероятность возникновения клинически значимой степени тяжести. Частота клинически значимых взаимодействий намного ниже, чем потенциальных. Вероятность возникновения нежелательного DDI часто является теоретической, а клинически важные побочные эффекты возникают только при наличии у пациентов специфических факторов риска [9]. Например, пациенты с сердечно-сосудистыми заболеваниями более подвержены воздействию неблагоприятных DDI, примерно у каждого десятого пациента, госпитализированного с сердечно-сосудистыми заболеваниями, может быть неблагоприятное DDI, приведшее к госпитализации [7]. Неблагоприятные лекарственные реакции являются основной причиной около 10% госпитализаций у пожилых людей, и почти 90% пожилых людей, госпитализированных по поводу ADR, имеют полипрагмазию при поступлении в больницу [3].

При наличии у пациента ряда заболеваний и одновременном применении нескольких ЛП лечащему врачу трудно прогнозировать возможные клинические риски при приёме различных комбинаций ЛП. Кроме того, имеет значение назначаемая врачом дозировка ЛП. Особенно критична дозировка в педиатрии и гериатрии, когда превышение терапевтической дозы может привести к фатальным последствиям. Пациенты с особенностями функции печени и почек, также находятся в зоне риска получения НЛР вследствие DDI.

Возможность предсказуемости и клинической значимости DDI зависит от механизма его развития. Механизмы межлекарственных взаимодействий могут быть фармакодинамические (ФД) и фармакокинетические (ФК) [6]. Взаимодействия ФД возникают, когда лекарства вызывают аддитивные или антагонистические фармакологические эффекты, влияющие на эффективность или побочные эффекты. Применение варфарина и нестероидных противовоспалительных препаратов является примером PD

взаимодействия, поскольку их одновременное применение может увеличить риск кровотечения.

Взаимодействия ФК могут быть связаны с изменениями всасывания, распределения, метаболизма и элиминации. DDI, связанные с абсорбцией, обычно связаны с тремя различными механизмами: изменения рН среды желудка; изменение кишечной абсорбции вследствие ингибирования или индукции ферментов CYP450; снижение всасывания может быть вторичным по отношению к хелатированию с катионом [10]. Например, совместное введение омепразола, атазанавира, ритонавира, снижает экспозицию атазанавира на 42%. Мощные индукторы или ингибиторы CYP3A, такие как рифампицин или эритромицин, увеличивают или уменьшают выделение циклоспорина кишечником, соответственно. Одновременное введение сульфата железа с ципрофлоксацином уменьшает площадь под кривой концентрация-время (AUC) ципрофлоксацина и максимальную концентрацию (C_{max}) на 57 и 54%, соответственно [6].

Распределение ЛП в тканях опосредуется переносчиками притока и оттока лекарств и зависит от связывания с белками, поскольку только свободная фракция сможет проникать через тканевые мембраны. Метаболические взаимодействия в основном связаны с изоферментами CYP450. Потенциально опасные взаимодействия двух ЛП, опосредованные цитохромом, хорошо охарактеризованы и легко предсказуемы [6].

Ингибирование канальцевой секреции ЛП другим ЛП признано важным механизмом взаимодействия ЛП. Изучение роли переносчиков притока и оттока в почечных клетках расширило понимание специфических механизмов, влияющих на элиминацию и позволило прогнозировать потенциальные DDI. Например, кларитромицин снижает почечную секрецию дигоксина за счёт ингибирования р-гликопротеина в почечных клетках [6].

В результате успехов современной медицины новым доказанным источником DDI стали варианты генетического полиморфизма. Важные генетические полиморфизмы существуют для CYP2C9, CYP2C19 и CYP2D6, что объясняет значительную часть индивидуальной изменчивости метаболизма лекарств [11]. Получены данные, что клинически установленные полиморфизмы CYP2C9, CYP2C19 и CYP2D6 могут иметь значение почти для половины из 200 наиболее часто назначаемых ЛП. Обычно в их список включают нестероидные противовоспалительные ЛП, метаболизируемые CYP2C9, ингибиторы протонной помпы, метаболизируемые CYP2C19, β -блокаторы, а также некоторые нейролептики и антидепрессанты, метаболизируемые CYP2D6 [6]. Из-

вестно, что многие генетические полиморфизмы могут влиять на экспрессию взаимодействий между лекарствами [1, 5, 6].

Таким образом, возникновение DDI будет зависеть от множества факторов, включая взаимосвязь ФК, ФД и терапевтического индекса лекарственного средства-мишени, мощность и концентрацию ингибитора или индуктора, долю лекарственного средства-мишени, на которую влияют специфические метаболические процессы, выведение или транспортный путь, который ингибируется или индуцируется, базовую биодоступность лекарственного средства-мишени, является ли лекарство-мишень пролекарством или активным лекарственным средством, фармакогеномику и влияние заболевания на другие параметры ФК и ФД [6]. В связи с этим следует различать потенциальные и фактические DDI. Потенциальные DDI — это случай, когда два ЛП, о которых известно, что они взаимодействуют, независимо от того, возникают ли в результате этого взаимодействия нежелательные явления. Фактическое DDI — это изменение клинически значимого действия целевого ЛП в результате одновременного введения другого лекарственного средства (преципитанта) [6]. С позиции принятия клинического решения о назначении и дозе ЛП важны только фактические DDI. Потенциальные DDI, а также фактические DDI, не приводящие к изменению клинического результата в рамках проводимой фармакотерапии важны только для научных исследований.

Цель работы — анализ баз данных о DDI, оценка их согласованности, эффективности для последующей разработки предложений для управления рисками фармакотерапии в РФ и ЕАЭС.

Материал и методы

В исследовании применялся контент-анализ интернет-ресурсов баз данных по DDI: Британский BNF — British National Formulary (<https://bnf.nice.org.uk/>), Thesaurus — национального агентства по безопасности лекарственных средств и товаров медицинского назначения Франции (Тезаурус), базы данных США: Drug Interaction Facts and the Micromedex (Drug-Reax) program — программа Университета Мерилэнда (США), таблица метаболических путей Женевской университетской больницы (Geneva University Hospital, Таблица GUH), Швейцария, а также First Databank (FDB) (<https://www.fdbhealth.com/>), Drugbank (<https://go.drugbank.com/>). Те ресурсы, доступ к которым неавторизованному пользователю закрыт, оценивались на основании публикаций, в которых им даётся характеристика. В исследовании применены методы системного программирования, математическое моделирование на основе теории нечётких множеств.

Результаты и обсуждение

Анализ особенностей и степени согласованности баз данных по межлекарственным взаимодействиям. Проведённый контент-анализ по-

Таблица 1. Сравнительная характеристика ресурсов по рискам межлекарственных взаимодействий
Table 1. Comparative characteristics of resources on the risks of drug interactions

Характеристика	BNF	Thesaurus	Drug Interaction Facts	The Micromedex (Drug-Reax)	First DataBank (FDB)	GUH	Drugbank
Принадлежность	National Institute for Health and Care Excellence, Великобритания	ANSM, Франция	Университет Мерилэнда, США	Университет Мерилэнда, США	Hearst Health, США	Geneva University, Швейцария	University of Alberta, проект OMx Personal Health Analytics Inc., Канада
Критерии включения	Доказанные и потенциальные	Клинические значимые	Доказанные	Клинические значимые	Доказанные и потенциальные	Доказанные и потенциальные	Доказанные и потенциальные
Доступ	Ограничена	Бесплатно	Бесплатно	Ограничена	Ограничена	Ограничена	Бесплатно
Режим просмотра	Онлайн	Офлайн	Офлайн	Онлайн	Офлайн	Офлайн	Онлайн
Специализация	DDI	DDI	DDI	DDI	Широкая	Широкая	Широкая
Цель	Практика	Практика	Практика	Практика	Практика	Практика	Наука
Сила доказательств	Да	Да	Да	Да	Да	Да	Нет

Примечание. BNF — Британский национальный формуляр, Великобритания; Thesaurus — Национальное агентство по безопасности лекарственных средств и товаров медицинского назначения, Франция; Drug Interaction Facts and the Micromedex (Drug-Reax) program — программы Университета штата Мерилэнд, США; FDB — First DataBank, Hearst Health, США; GUH — таблица метаболических путей Женевской университетской больницы (Geneva University Hospital), Швейцария; Drugbank — Он-лайн база данных, Канада.

Note. BNF — British National Formulary, Great Britain, Thesaurus — National Agency for the Safety of Medicines and Health Products, France; Drug Interaction Facts and the Micromedex (Drug-Reax) program — programs of the University of Maryland, USA; FDB — First DataBank, Hearst Health, USA; GUH — metabolic pathway table of the Geneva University Hospital, Switzerland; Drugbank — Online database, Canada

казал, что в мире создано и функционирует много справочников и баз данных по DDI. Это могут быть справочники в режиме поиска по ключевым словам или обновляемые списки взаимодействий. Некоторые базы содержат подтвержденные исследования с информацией о силе доказательств, другие содержат потенциальные взаимодействия с разной степенью доказанности. Справочники и базы данных по подтвержденным и потенциальным DDI можно разделить на поддерживаемые государственными и регуляторными органами и коммерческие издания, находящиеся в открытом и ограниченном (условном) доступе (табл. 1).

Сайт Британского национального формуляра NICE (BNF) доступен бесплатно для пользователей в Великобритании (Англия, Шотландия, Уэльс и Северная Ирландия). Для пользователей вне Великобритании доступ возможен по платной подписке. Тезаурус французского регуляторного агентства является полностью открытым офлайн ресурсом. Недостатком этого ресурса можно отнести отсутствие возможности поиска по ключевым словам. Для получения доступа в базу Drug Interaction Facts and the Micromedex® [12] необходима авторизация в Университете штата Мерилэнд.

Коммерческие источники доступны по платной подписке, в соответствии с которой предоставляют различный спектр информационных услуг. First DataBank является коммерческим ресурсом глобальной сети компаний Hearst Health, работающих в сфере медиа, информации и услуг. Имеют опыт интеграции медицинской информации в информационные системы здравоохранения.

Базы данных создаются для различных целей: могут быть направлены на поддержку принятия клинических решений или предполагают помощь в научной деятельности и разработке лекарственных средств. Вследствие поставленных задач справочники, ориентированные на поддержку клинических решений, будут больше ориентироваться на доказанные взаимодействия и их механизмы. Справочники, направленные на научную деятельность, будут содержать предполагаемые или потенциальные взаимодействия, например, Drugbank. Источник содержит большое количество информации о ЛПИ, обновление происходит ежедневно. Однако авторы поставили задачу внести наиболее обширную информацию. Все данные в DrugBank получены из общедоступных непатентованных источников и включают данные о потенциальных неподтвержденных DDI. Поэтому его использование ограничено научными целями.

Но даже базы данных с одинаковыми целями будут иметь различия того или иного уровня. Так Е. Kontsioti и соавт. [1] указывают на следующие данные по совпадениям информации: количество

общих DDI в трёх базах данных, которые они исследовали, составило 6970 (13,54% BNF, 18,32% The-saurus и 10,65% Micromedex). Другие исследователи считают, что данные отличаются вследствие разных целей и задач этих баз данных. Так, информация в First Databank (FDB) включает широкий круг задач от приверженности пациентов к лечению до контроля логистических цепочек ЛП.

E. Moreau и соавт. [13] считают, что справочники Тезаурус, таблица GUN и веб-сайт DDI — Предиктор (DDI-P) дополняют друг друга и для принятия решения необходимо изучать их вместе. В Тезаурусе перечислены DDI, считающиеся клинически значимыми. Таблица GUN суммирует данные *in vivo* и *in vitro* о потенциальных путях биотрансформации или лекарственных взаимодействиях. Приложение (веб-сайт: www.ddi-predictor.org) может быть использовано, когда можно предусмотреть корректировку медикаментозного лечения в случае DDI, идентифицированного Тезаурусом ANSM или инструментом GUN способствовал выявлению таких DDI [13].

База данных Micromedex (Drug-Reax) program [14] DRUG-REAX Truven Health Analytics позволяет проверять взаимодействующие лекарственные ингредиенты, их эффекты и клиническую значимость. Информация включает не только данные по DDI, но и взаимодействия типа пища — лекарство и другие сведения.

Согласно исследованиям K.W. Fung с соавт. [15] базы данных содержат сведения о DDI 1,6 млн (FDB), 4,5 млн (Micromedex) и 4,8 млн (Multum) пар ЛП. Всего было найдено 8,6 млн уникальных пар ЛП, из которых 79% были найдены только в 1 базе и 5% — во всех 3 базах. Все 3 базы были согласованы по степени тяжести DDI.

A. Shariff с соавт [16] сравнивали базы данных: Micromedex®, Portable Electronic Physician Information Database UpToDate®, средство проверки взаимодействия с лекарственными средствами Medscape.com, средство проверки взаимодействия с лекарственными средствами Drugs.com, Stockley's Drug Interactions, Drug Interactions Analysis & Management: Facts and Comparisons 2014. Показатели согласованности между источниками DI были низкими ($k < 0,20$, $p < 0,05$) для информации, касающейся тяжести, клинических эффектов, механизма и лечения DDI.

Анализ 14 общедоступных ресурсов (включая 5 источников клинической информации, 4 программы обработки естественного языка и 5 источников информации по биоинформатике/фармаконадзору) выявил большие различия в содержании, при этом совпадение между взаимодействующими парами лекарств между любыми двумя источниками обычно составляет менее 50% [17, 18].

Коммерческие базы знаний значительно различаются по размеру и количеству генерируемых

предупреждений. Однако согласованы по информации о DDI наиболее общепотребительных ЛП, достаточно согласованны в рейтинге оценки тяжести DDI. Отмечается необходимость проведения работ по стандартизации политики и доказательств для включения DDI в базу данных, чтобы уменьшить различия между источниками знаний и повысить актуальность для терапевтической практики [3, 19].

Базы данных характеризуются наличием DDI между парами: терапевтический класс — терапевтический класс; терапевтический класс-активная фармацевтическая субстанция; активная фармацевтическая субстанция — активная фармацевтическая субстанция [1, 15]. Целесообразность обобщения DDI для ЛП одного терапевтического класса по известным причинам ставится под сомнение. Поэтому уже по этому критерию в разных базах имеются разночтения. Оценка тяжести DDI и клинические рекомендации по их минимизации также различаются [1]. Простота использования с точки зрения времени поиска информации и времени сбора информации была одинаковой для всех ресурсов [20].

В других исследованиях [1] установлен высокий уровень сходства в своих оценках серьёзности, но также были выявлены различия в рекомендациях по клиническому ведению возникающих DDI [1]. Следует отметить, что чаще всего совпадали данные о DDI, классифицированных как критические [1].

Таким образом, установленные различия возникают вследствие отсутствия единых алгоритмов по классификации и структуризации данных о DDI. Разногласия между ресурсами, которые предоставляют информацию DDI, также являются результатом сложности задачи и изменчивости поставленных перед создателями каждой базы целей. Эксперт, стремящийся всесторонне охарактеризовать все потенциальные DDI, может включать информацию, которая может быть проигнорирована другим экспертом, который отбирает информацию по другим критериям [11].

Для гармонизации информации о DDI предлагаются различные алгоритмы для структуризации данных о DDI [11], основанные на основных параметрах: данные о взаимодействии; клиническая значимость потенциальной нежелательной реакции в результате взаимодействия; факторы риска, определяющие характеристики пациента, лекарства или заболевания, для которых взаимодействие имеет особое значение; и частота побочных реакций. Когда программа поддержки клинического решения генерирует оповещение, пользователю системы предоставляется исчерпывающая информация о четырёх основных параметрах, механизме взаимодействия и критически важная информация для

управления взаимодействием для отдельного пациента [11].

При этом исследователи S. Phansalkar и соавт. [21] отмечают наличие усталости врачей от непрерывного потока предупреждений разной степени доказанности, вероятности развития и клинической значимости и, как следствие, игнорирование сообщений о DDI. Обилие информации затрудняет врачу принятие рутинных решений о назначении ЛП [22, 23].

Компьютеризированные системы наблюдения за лекарственными взаимодействиями (CIS) могут быть полезны для выявления клинически значимых лекарственных взаимодействий и для рутинной практики терапевтических назначений. При этом опыт работы с CIS показывает, что эффективность работы с ними зависит от качества и избирательности занесённой в них информации. Например, королевская голландская ассоциация развития фармации (KNMP) занимается проблемами ведения CIS в Нидерландах [11].

Поскольку ресурсы и опыт, необходимые для разработки и внедрения собственной базы знаний DDI, доступны только нескольким крупным академическим центрам, большинство организаций предпочитают приобретать базы знаний у коммерческих поставщиков [15]. Основные факторы недоверия врачей к сторонним базам данных — непоследовательная оценка и классификация взаимодействий. Несогласованность данных способствует попаданию в базы данных информации различной степени доказанности и важности, что приводит к чрезмерному количеству предупреждений о DDI [6]. Также важны возможности настройки предупреждений о DDI в зависимости от потребностей конкретной медицинской организации, например, профиля или особенностей групп пациентов, обслуживаемых системами и местными рекомендациями по лечению. Такие возможности показывают, что с одной стороны, должна быть унификация требований к созданию баз данных о DDI, с другой стороны, необходимо предусмотреть разные варианты оформления, учитывая потребности медицинского учреждения, для которого такая система создаётся. В РФ утверждаются клинические рекомендации, содержащие ЛП выбора и альтернативы, сопутствующую терапию, возможные сопутствующие заболевания, которые регламентируют врачу алгоритм рутинных назначений. Однако возможны различные комбинации назначений для каждого конкретного пациента с учётом его уникальности.

Исследователи [18] предприняли попытку сформулировать исчерпывающий перечень информации, необходимой для создания базы данных о DDI, пригодной для управления рисками возникновения DDI в клинической практике. На

основе анализа источников литературы и опроса экспертов ими были сформированы 59 критериев. Критерии были объединены в 4 категории: информация о ЛП и DDI; уровень доказательств, доказательства, клинические рекомендации. В категории «Информация о ЛП и взаимодействиях» лидируют по частоте — механизм взаимодействия, фармакокинетика, временное перекрытие при введении взаимодействующих препаратов, фармакодинамика, частота совместного введения, категория (класс/родственные ЛП), вероятность DDI. В категории «Уровень доказательств» — дозировка. Но в целом данный раздел не явился значимым для опрошенных, так как предполагается, что все рекомендации имеют достаточно высокий уровень доказательств. В категории «Доказательства» экспертами выделены — серьёзность DDI: клиническое значение, вероятность необратимого заболевания, вероятность смертельного исхода, а также клинические и демографические факторы пациента. В категории «Клинические рекомендации» лидируют предложения по наблюдению, коррекции дозы, стратегии проведения дальнейшей терапии.

Таким образом, сформирован набор необходимых требований к информации о DDI, на основании которых врач способен оценить степень риска возникновения DDI для своего пациента. Так, например, демографическая характеристика пациентов, у которых наблюдалась DDI, важна, в связи с тем, что DDI наиболее часто фиксируются у пациентов пожилого возраста и женского пола.

Система поддержки принятия клинических решений в медицинской организации. Существуют разные подходы к созданию баз данных о DDI, способствующих принятию клинических и управленческих решений. Поэтому врачи сталкиваются с трудностями в восприятии и перенасыщены поступающей сигнальной информацией о доказанных и потенциальных взаимодействиях [19]. Информация, связанная с DDI, значительно различается от одного ресурса информации о ЛП к другому. Эти различия создают проблемы для врачей в принятии правильных решений относительно назначения комбинаций ЛП [16]. Исследователи [24] обнаружили, что 14–44% основных DDI, перечисленных в одном из изученных справочников, не были перечислены в других справочниках. Вариабельность содержания баз знаний, объясняют также различия в реализации программного обеспечения [15].

На основе проведённого анализа выявлена потребность в создании локальных систем поддержки принятия клинических решений для медицинских организаций и отдельно взятых отделений для создания на основе баз данных по DDI удобного интерфейса, сокращающего время на принятие решения о назначении ЛП в зависи-

Таблица 2. Балльная система присвоения вероятности возникновения DDI**Table 2. Scoring system for assigning the probability of occurrence of DDI**

Баллы	Уровень риска	Рекомендации
0–1	Отсутствует/очень низкая	Назначение оптимально
1–2	Низкая	Назначение рекомендовано
2–3	Средняя	Назначение с реализацией терапии DDI
3–4	Высокая	Отказ от назначения в пользу альтернативных методов терапии / коррекция дозы / назначение под строгим контролем критических показателей и коррекцией DDI
4–5	Очень высокая	Отказ от назначения / назначение под строгим контролем критических показателей DDI
Более 5	Критическая	Отказ от назначения

мости от локальных формуляров ЛП, их комбинациям, которые наиболее часто назначаются в отдельной медицинской организации. Медицинская организация может при применении своей собственной программы системы поддержки принятия клинического решения вносить свои специфические коррективы.

На основе проведённого анализа были сформулированы следующие требования к программе для ЭВМ для установки в качестве элемента системы поддержки принятия клинических решений в медицинской организации:

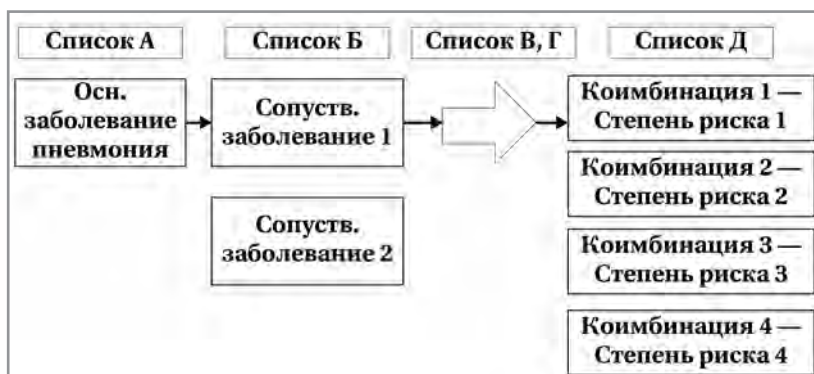
1. Определённый список ЛП, определяемый рутинными назначениями.
2. Демографические характеристики и факторы риска, высокая вероятность определённых коморбидных состояний пациентов, проходящих лечение с определёнными диагнозами.
3. Набор критериев по которым проводится стратификация пациентов с определённым диагнозом в рутинной клинической практике.
4. Возможность вносить изменения и добавления по всем критериям.

Для этого были сформированы перечни ЛП, соответствующие терапии инфекции нижних дыхательных путей: список А — основные ЛП, например, антибактериальные ЛП, которые чаще всего применяются при лечении нижних дыхательных путей [25]; список Б, В, Г — ЛП сопутствующей и вспомогательной терапии с учётом коморбидных состояний и хронических заболеваний целевой

группы пациентов. На следующем этапе на основании количественных данных о возникновении DDI была сформирована шкала, которая характеризовала вероятность наступления клинически значимого DDI (табл. 2). На основании этой шкалы был сформирован список Д, характеризующий клинический результат DDI комбинации пары ЛП. Уровень потенциального риска в списке Д оценивается исходя из частоты, тяжести и сопутствующих заболеваний. Сведения о возможных DDI были получены из базы даны VigiBase.

В программу предварительно заносится информация по ЛП, назначаемым для терапии основного заболевания (Список А); в примере, представленном на рис. 1, занесена информация по антибактериальным ЛП для лечения инфекций нижних дыхательных путей. Далее формируются списки с другими ЛП (Список Б, В, Г), которые содержат информацию о ЛП, применяющихся при лечении сопутствующих заболеваний, наиболее распространённых хронических заболеваниях пациентов, поступающих с диагнозом инфекция нижних дыхательных путей. Далее в программу заносится информация по рискам DDI, из которых формируется Список Д и другие. В этих списках содержится информация о степени вероятности возникновения потенциального риска (см. рис. 1).

Таким образом, в программе заполняются поля, которые могут быть изменены и дополнены пользователем программы, имеющим соответствующий доступ (табл. 3).

**Рис. 1. Алгоритм формирования рекомендации****Fig. 1. Algorithm for generating recommendations**

Работа пользователя с программным продуктом осуществляется в диалоговом формате с помощью окон на экране. Пользователю предоставляется возможность установления первоначальных критериев: основной диагноз, сопутствующая и симптоматическая терапия (табл. 4). Интерфейс программы представлен на рис. 2.

Программа обеспечивает выполнение следующих функций:

- регистрация сведений о ЛП, применяемых для терапии инфек-

Таблица 3. Описание полей разделов программы
Table 3. Description of program sections fields

Содержимое	Примечание
Основной диагноз	Комбинированный список с возможностью выбора одного
Сопутствующий диагноз	Комбинированный список с возможностью выбора одного
Антибиотик МНН	Комбинированный список с возможностью выбора одного
Сопутствующее МНН	Комбинированный список с возможностью выбора одного
Степень риска	Поле для ввода числовое

Таблица 4. Значения выпадающего списка для поля
Table 4. Drop-down list values for the field

Основной диагноз	Сопутствующий диагноз
Пневмония лёгкой степени тяжести	ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь лёгких
Пневмония средней степени тяжести	СД — сахарный диабет
Тяжёлая пневмония	ХБП — хроническая болезнь почек
	ХСН — хроническая сердечная недостаточность
	Симптоматическая терапия



Рис. 2. Интерфейс программы для ЭВМ.
Fig. 2. Computer program interface.

ционных заболеваний нижних дыхательных путей;

- регистрация сведений об уровнях риска сочетаний различных действующих веществ лекарственных препаратов и возникающих при таких сочетаниях нежелательных реакций;
- оценка риска применения ЛПП при наличии у пациента сопутствующей патологии;
- рекомендации по подбору оптимальной терапии при наличии у пациента сопутствующей патологии с учётом уровней риска сочетаний действующих веществ

Программа для ЭВМ предназначена для учёта сведений об уровнях риска сочетаний различных действующих веществ ЛПП в целях контроля корректности формирования инструкции по медицинскому применению препарата, контроля рисков применения ЛПП в части сведений о сочетании с другими ЛПП. Получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ «Моделирование рациональной комбинированной фармакотерапии при инфекциях нижних дыхательных путей» № 2022669265 от 19.10.2022 [26]. Программа внедрена в деятельность ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России для использования экспертами при проведении экспертизы ЛПП при оценке корректности составления инструкции по медицинскому применению и общей характери-

стики лекарственного препарата, плана управления рисками и научной деятельности учреждения.

Заключение и выводы

Проведённый контент-анализ установил большое количество различных баз данных и программ, способствующих принятию врачом надлежащего клинического решения. Базы данных и программы имеют различные цели, различный набор данных о DDI с различной степенью доказательств, различия в оценке степени тяжести, вероятности возникновения, клинических рекомендациях по терапии и коррекции DDI. Такая вариабельность сведений обусловлена:

- отсутствием единой системы оценки тяжести и вероятности наступления потенциальных негативных последствий DDI;
- различиями в поставленных целях и задачах при их создании;
- разной доступностью и бюджетом при создании.

Также следует добавить, что прогнозируемые DDI не всегда приводят к клинически значимым явлениям, а DDI на пары ЛПП трудно экстраполировать на пациентов со сложными схемами приёма ЛПП. Вследствие этого в базах данных наблюдаются незначимые и недоказанные DDI, что

приводит к усталости врачей от избыточности предупреждений.

Различие информации в базах данных может иметь негативные последствия для безопасности пациентов. Выявлена необходимость в гармонизации и стандартизации требований для внесения информации о DDI в базы данных. Медицинским организациям удобно применять программы, способствующие рационализации фармакотерапии приспособленные для локального использования, созданные для удовлетворения их специфических требований. В результате проведенного исследования была создана программа для ЭВМ, которая может применяться как часть системы поддержки принятия регуляторных решений при экспертизе регистрационных досье лекарственного препарата и клинических решений в рутинной клинической практике. Программа может дополняться информацией из баз данных о DDI в зависимости от потребностей организации. Программа будет способствовать ускорению принятия решения врачом при лечении нижних дыхательных путей в зависимости от особенностей пациента. Программа для ЭВМ может использоваться для принятия управленческих решений

при составлении очередного выпуска клинических рекомендаций.

Дополнительная информация

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00005-21-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учёта НИР 121022000154-2).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00005-21-02 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121022000154-2).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов. А. А. Таубэ — концепция исследования, анализ и интерпретация полученных результатов, написание текста рукописи, работа с табличным материалом, ответственность за все аспекты работы; М. В. Журавлева — редактирование текста; редактирование и доработка текста рукописи, финальное утверждение рукописи, ответственность за все аспекты работы.

Литература/References

- Kontsioti E., Maskell S., Bensalem A., Dutta B., Pirmohamed M. Similarity and consistency assessment of three major online drug-drug interaction resources. *Br J Clin Pharmacol.* 2022 Sep; 88 (9): 4067–4079. doi: 10.1111/bcp.15341. Epub 2022 Apr 12. PMID: 35362214; PMCID: PMC9545693.
- Department of Health and Social Care. Good for You, Good for Us, Good for Everybody: A Plan to Reduce Overprescribing to Make Patient Care Better and Safer, Support the NHS, and Reduce Carbon Emissions; 2021. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/1019475/good-for-you-good-for-us-good-for-everybody.pdf. Published September 22, 2021. Accessed март 28, 2023.
- Wastesson J.W., Morin L., Tan E.C.K., Johnell K. An update on the clinical consequences of polypharmacy in older adults: a narrative review. *Expert Opin on Drug Safety.* 2018; 27 Jul: 1185–1196. doi: <https://doi.org/10.1080/14740338.2018.1546841>
- Pirmohamed M., James S., Meakin S., Green C. Adverse drug reactions as cause of admission to hospital. *BMJ.* 2004; 329 (7463): 15–19. doi: 10.1136/bmj.329.7456.15.
- Magro L., Moretti U., Leone R. Epidemiology and characteristics of adverse drug reactions caused by drug–drug interactions. *Expert Opin Drug Saf.* 2012; 11 (1): 83–94. doi: 10.1517/14740338.2012.631910.
- Tannenbaum C., Sheehan N.L. Understanding and preventing drug–drug and drug–gene interactions. *Expert Review of Clinical Pharmacology.* 2014; 7 (4): 533–544. doi: <https://doi.org/10.1586/17512433.2014.910111>.
- Kovačević M., Kovačević S.V., Radovanović S., Stevanović P., Miljković B. Adverse drug reactions caused by drug–drug interactions in cardiovascular disease patients: introduction of a simple prediction tool using electronic screening database items. *Cardiovascular Medicine.* 2019; 26 Aug: 1873–1883. doi: <https://doi.org/10.1080/03007795.2019.1647021>.
- Tod M., Pierrillas P.B., Bourguignon L., Goutelle S. Comparison of the static in vivo approach to a physiologically based pharmacokinetic approach for metabolic drug–drug interactions prediction. *Int J Pharm.* 2016; 1; 25–34. doi: <https://doi.org/10.4155/ipk.16.2>
- Magro L., Moretti U., Leone R. Epidemiology and characteristics of adverse drug reactions caused by drug–drug interactions. *Expert Opin Drug Saf.* 2012 Jan; 11 (1): 83–94. doi: 10.1517/14740338.2012.631910.
- Merative Micromedex Web Application Access [cited 18.04.2023]. Available from: <https://www.micromedexsolutions.com/home/dispatch>
- van Roon E.N., Flikweert S., le Comte M., Langendijk P.N., Kivee-Zuiderwijk W.J., Smits P., Brouwers J.R. Clinical relevance of drug–drug interactions: a structured assessment procedure. *Drug Saf.* 2005; 28 (12): 1131–1139. doi: 10.2165/00002018-200528120-00007.
- Seripa D., Pilotto A., Panza F. et al. Pharmacogenetics of cytochrome P450 (CYP) in the elderly. *Ageing Res Rev.* 2010; 9 (4): 457–74.
- Moreau F., Simon N., Walther J., Dambrine M., Kosmowski G., Genay S., Perez M., Lecoutre D., Belaiche S., Rousselière C., Tod M., Décaudin B., Odou P. Does DDI-predictor help pharmacists to detect drug–drug interactions and resolve medication issues more effectively? *Metabolites.* 2021 Mar 17; 11 (3): 173. doi: 10.3390/metabo11030173.
- DRUG-REAX. (2012). Truven Health Analytics. [cited 18.04.2023]. Available from: https://search.lib.uts.edu.au/discovery/fulldisplay/alma991001040579705671/61UTS_INST:61UTS.
- Fung K.W., Kapusnik-Uner J., Cunningham J., Higby-Baker S., Bodenreider O. Comparison of three commercial knowledge bases for detection of drug–drug interactions in clinical decision support. *J Am Med Inform Assoc.* 2017 Jul 1; 24 (4): 806–812. doi: 10.1093/jamia/ocx010. PMID: 28339701. PMCID: PMC6080681.
- Shariff A., Belagodu Sridhar S., Abdullah Basha N.F., Bin Taleth Alshemeil S.S.H., Ahmed Aljallaf Alzaabi N.A. 4th. Assessing consistency of drug–drug interaction-related information across various drug information resources. *Cureus.* 2021 Mar 8; 13 (3): e13766. doi: 10.7759/cureus.13766.
- Ayvaz S., Horn J., Hassanzadeh O., Zhu Q., Stan J., Tatonetti N.P., Vilar S., Brochhausen M., Samwald M., Rastegar-Mojarad M. et al. Toward a complete dataset of drug–drug interaction information from publicly available sources. *J Biomed Inform.* 2015; 55: 206–217. doi: 10.1016/j.jbi.2015.04.006.
- Romagnoli K.M., Nelson S.D., Hines L., Empey P., Boyce R.D., Hochheiser H. Information needs for making clinical recommendations about potential drug–drug interactions: a synthesis of literature review and interviews. *BMC Med Inform Decis Mak.* 2017 Feb 22; 17 (1): 21. doi: 10.1186/s12911-017-0419-3. PMID: 28228132; PMCID: PMC5322613.
- Olakotan O., Mohd Yusof M., Ezat Wan Puteh S. A Systematic Review on CDSS Alert Appropriateness. *Stud Health Technol Inform.* 2020 Jun 16; 270: 906–910. doi: 10.3233/SHTI200293.
- Patel R.I., Beckett R.D. Evaluation of resources for analyzing drug interactions. *J Med Libr Assoc.* 2016 Oct; 104 (4): 290–295. doi: 10.3163/1536-0050.104.4.007.
- Phansalkar S., van der Sijs H., Tucker A.D., Desai A.A., Bell D.S., Teich J.M., Middleton B., Bates D.W. Drug–drug interactions that should be non-interruptive in order to reduce alert fatigue in electronic health records. *J Am Med Inform Assoc.* 2013 May 1; 20 (3): 489–93. doi: 10.1136/amiajnl-2012-001089.

22. *Lapane K.L., Waring M.E., Schneider K.L., Dubé C., Quilliam B.J.* A mixed method study of the merits of e-prescribing drug alerts in primary care. *J Gen Intern Med.* 2008 Apr; 23 (4): 442–446. doi: 10.1007/s11606-008-0505-4.
23. *Magnus D., Rodgers S., Avery A.J.* GPs' views on computerized drug interaction alerts: questionnaire survey. *J Clin Pharm Ther.* 2002 Oct; 27 (5): 377–382. doi: 10.1046/j.1365-2710.2002.00434.x. PMID: 12383140.
24. *Vitry A.I.* Comparative assessment of four drug interaction compendia. *Br J Clin Pharmacol.* 2007 Jun; 63 (6): 709–714. doi: 10.1111/j.1365-2125.2006.02809.x.
25. *Таубэ А.А., Демидова О.А., Александрова Т.В., Степанов Е.А., Журавлева М.В., Аляутдин Р.Н.* Анализ структуры назначений антибактериальных препаратов при внебольничной пневмонии в условиях реальной клинической практики. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2022; 24 (4): 388–394. doi: <https://doi.org/10.36488/cmac.2022.4.388-394>. [Taube A.A., Demidova O.A., Aleksandrova T.V., Stepanov E.A., Zhuravleva M.V., Alyautdin R.N. Analysis of the structure of drugs for hospital-acquired pneumonia in real clinical practice. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2022; 24 (4): 388–394. doi: <https://doi.org/10.36488/cmac.2022.4.388-394>. [in Russian]]
26. Моделирование рациональной комбинированной фармакотерапии при инфекциях нижних дыхательных путей А.А.Таубэ, Р.Н.Аляутдин, М.В.Журавлева, В.Ю. Трубин. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ 2022669265, 19.10.2022. [Modelirovanie ratsional'noj kombinirovannoj farmakoterapii pri infektsiyakh nizhnikh dykhatel'nykh putej A.A.Taube, R.N.Alyautdin, M.V.Zhuravleva, V.Jyu. Trubin. Svidetel'stvo o registratsii programmy dlya EVM 2022669265, 19.10.2022. (in Russian)]

Информация об авторах

Таубэ Александра Альбертовна — к. фарм. н., научный сотрудник, доцент кафедры экономики и управления, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-5594-4859

Журавлева Марина Владимировна — д. м. н., профессор, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России; профессор кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Первого московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-9198-8661

About the authors

Aleksandra A. Taube — Ph. D. in Pharmaceutics, Researcher, Associate Professor of the Department of Economics and Management, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-5594-4859

Marina V. Zhuravleva — D. Sc. in Medicine, Professor, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation; Professor of the Department of Clinical Pharmacology and Propaedeutics of Internal Diseases, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-9198-8661

Спектры литической активности бактериофагов

*И. М. ПЧЕЛИН¹, А. Е. ГОНЧАРОВ^{1,2,3}, Б. И. АСЛАНОВ², Д. В. АЗАРОВ^{1,2}

¹ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

² Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

³ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Lytic Activity Spectra of Bacteriophages

*IVAN M. PCHELIN¹, ARTEMIY E. GONCHAROV^{1,2,3},
BATYRBEK I. ASLANOV², DANIIL V. AZAROV^{1,2}

¹ Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

² North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

³ Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

Резюме

Одним из центральных вопросов науки о бактериофагах является их хозяйская специфичность, обусловленная возможностью реализации жизненного цикла вируса на разных стадиях, включая адсорбцию, проникновение генетического материала вируса в клетку и его репликацию, сборку фаговых частиц и лизис клетки. Лабораторные оценки спектра литической активности фагов неразрывно связаны со значительной методической погрешностью, и часто используемый метод спот-теста может давать большой процент ложноположительных результатов. Наряду с разнообразием типов фаговой специфичности, имеет место её изменчивость во времени. Совместная эволюция фагов и бактерий приводит к приобретению бактериями устойчивости к вирусам и накоплению в геномах бактериофагов мутаций, направленных на преодоление этой устойчивости. В то же время адаптация бактериофагов к бактериям, эволюционно отдалённым от основных хозяев, в значительной степени затруднена. В основе этого барьера лежат особенности метаболизма, структур клеточной стенки и механизмов реализации матричных процессов. Пространственный фактор фаговой специфичности проявляется в большей ширине спектров литической активности бактериофагов на локальных выборках бактерий по сравнению со спектрами, оцененными на выборках изолятов из местообитаний, географически удалённых от места выделения вируса.

Ключевые слова: бактериофаги; спектр литической активности; специфичность бактериофагов; детерминанты специфичности; ширина диапазона действия

Для цитирования: Пчелин И. М., Гончаров А. Е., Асланов Б. И., Азаров Д. В. Спектры литической активности бактериофагов. *Антибиотики и химиотерапия*. 2023; 68 (11–12): 59–66. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-59-66>.

Abstract

One of the central topics in bacteriophage research is the host specificity. It depends on the success of completing viral life cycle stages, including adsorption, penetration of the genetic material of the virus into the cell and its replication, assembly of phage particles and cell lysis. Laboratory assessments of the spectrum of lytic activity of phages are inextricably linked to significant methodological biases, and the often used spot test method can be associated with a large percentage of false-positive results. Along with the variety of types of phage specificity, there is temporal variability. The co-evolution of phages and bacteria leads to the acquisition of resistance to viruses by bacteria and the accumulation of mutations in the genomes of bacteriophages aimed at overcoming this resistance. At the same time, the adaptation of bacteriophages to bacteria that are evolutionarily distant from the isolation hosts is barely possible. This barrier is based on the peculiarities of metabolism, cell wall structures and mechanisms for the implementation of matrix processes. The spatial factor of phage specificity is manifested in the greater breadth of the spectra of lytic activity of bacteriophages on local samples of bacteria compared to the spectra assessed on samples of isolates from habitats geographically distant from the place of virus isolation.

Keywords: bacteriophages; lytic host spectrum; bacteriophage specificity; host range determinants; host range breadth

For citation: Pchelin I. M., Goncharov A. E., Aslanov B. I., Azarov D. V. Lytic activity spectra of bacteriophages. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68 (11–12): 59–66. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-59-66>.

Введение

Со времени своего открытия в начале XX в. вирусы бактерий, или бактериофаги, исполь-

зуются для борьбы с болезнетворными микроорганизмами [1]. По мнению ряда авторов, узкая специфичность бактериофагов, их мутационная изменчивость и иммуногенность, а также при-

© Коллектив авторов, 2023

*Адрес для корреспонденции: ул. Академика Павлова, д. 12
ИЭМ, г. Санкт-Петербург, Россия, 197022.
E-mail: arcella.oraia@gmail.com

© Team of Authors, 2023

*Correspondence to: 12 Akademika Pavlova st., Institute of
Experimental Medicine, Saint Petersburg, 197022 Russia.
E-mail: arcella.oraia@gmail.com

обретаемая фагорезистентность бактерий ограничивают сферу применения фаговых препаратов антибиотикорезистентными инфекциями и состояниями, позволяющими перед применением препаратов выделять время на определение фагочувствительности бактерий [2, 3]. Другие авторы указывают на высокую эффективность сочетанной терапии бактериофагами и антибиотиками, подтверждённую на практике [4, 5]. В любом случае, применение бактериофагов в медицине является одним из решений современного кризиса антибиотикорезистентности [6, 7].

Специфичность, или спектр активности бактериофага (*англ.* host range) можно определить как способность фаговых частиц взаимодействовать с определённым набором бактерий из репрезентативной коллекции штаммов. Спектр активности может описывать различные взаимодействия фагов и бактерий, например, адсорбцию или трансдукцию [8]. Спектры активности умеренных бактериофагов имеют непосредственную связь с передачей факторов патогенности путём трансдукции [9, 10].

С практической точки зрения наиболее интересны литические спектры активности, выражающиеся в гибели бактериальных клеток. Наряду с типом жизненного цикла, таксономической принадлежностью, отсутствием факторов патогенности бактерий в геноме и частотой возникновения бактериальной резистентности, спектр литической активности (диапазон действия) является основной характеристикой терапевтического бактериофага [11]. Концентрация активных в отношении инфекционного агента бактериофагов в препарате влияет на эффективность контроля бактериальной популяции [12, 13], и более широкие спектры активности, позволяющие снизить разнообразие фагов в коктейлях с сохранением суммарного диапазона действия, для терапевтических бактериофагов являются желательным свойством [14–17].

Цель обзора — изложить современное понимание специфичности действия бактериофагов. Мы рассмотрели подходы к определению спектров литической активности, молекулярные механизмы, определяющие фаговую специфичность, и её изменчивость. В частности, нас интересовало сравнение оценок ширины диапазона действия бактериофагов, полученных на локальных и географически удалённых выборках бактериальных изолятов.

Способы оценки спектров литической активности

Три разновидности спектра литической активности определяются используемыми для тестирования *in vitro* лабораторными методами [18].

Спот-спектр оценивают с помощью описанной в федеральных клинических рекомендациях методики спот-теста, заключающейся в выявлении активности тестируемого фаголизата на газоне тестируемой культуры [19]. Помимо случаев успешного размножения вируса на бактериях, положительные результаты спот-теста включают в себя случаи лизиса снаружи, когда гибель бактерий обусловлена адсорбцией большого количества фаговых частиц. При тестировании неочищенных фаголизатов, образование пятен лизиса может быть обусловлено действием свободных фаговых ферментов — фаголизин, образовавшихся в ходе наработки препарата на штамм-продуценте.

Бляшкообразующий спектр активности может считаться более информативной характеристикой. Для его оценки применяют спот-тест с разведениями фагового препарата или метод агаровых слоёв, включающий в себя смешивание бактериальной культуры и фагового препарата с полужидким агаром и наложение получившейся смеси на стандартный питательный агар. В обоих случаях положительный результат теста позволяет наблюдать негативные колонии бактериофага, или бляшки, образовавшиеся в ходе размножения отдельных вирусных частиц. Таким образом, бляшкообразующий спектр включает в себя только те бактериальные изоляты, которые способны поддерживать размножение бактериофага. Бляшкообразующие спектры могут быть уже по охвату тестируемой выборки бактерий по сравнению со спот-спектрами.

Несмотря на то, что систематические обзоры литературы по данному вопросу в настоящее время отсутствуют, известны примеры значительно различающихся спот-спектров и бляшкообразующих спектров литической активности. Так, миовирус vB_SauM_LM12 из семейства *Herelviridae* был протестирован на штаммах *Staphylococcus aureus*. По результатам спот-теста, пятна лизиса наблюдались на всех штаммах, но фаг размножался лишь на 72% бактерий [20]. Специфичность бактериофага phiBB-SEP1 из того же семейства изучалась на выборке штаммов *S.epidermidis*. Сходным образом, пятна лизиса были выявлены во всех спот-тестах, но бляшкообразующий спектр охватывал только 44% выборки бактерий [21]. Подовирус myPSH1235 из семейства *Autographiviridae* на штаммах *Klebsiella pneumoniae* показал спот-спектр и бляшкообразующий спектр в 52% и 39%, соответственно [22]. Для вируса vB_STy-RN5i1 той же таксономической группы спектры литической активности на *Salmonella enterica* были оценены в 90 и 35% [23]. Интересный пример различий в охвате спот-спектра и бляшкообразующего спектра был описан для сифовируса из рода *Lokivirus*. Разными методами

его литическая специфичность по отношению к изолятам *Acinetobacter baumannii* была оценена как 95 или 3% [24]. Очевидно, что при тестировании этого сифовируса в соответствии с федеральными рекомендациями положительные результаты были бы получены в 95% случаев, но эффективность *in vivo* в качестве терапевтического агента была бы неоптимальной.

Успешное прохождение жизненного цикла бактериофага на каком-либо штамме не обязательно связано со способностью этого бактериофага подавлять рост культуры в жидкой среде. Для результатов такого тестирования S. Moreno и соавт. [25] предложили использовать термин «кинетический спектр активности». В их исследовании бактериофаги семейства *Herelleviridae* образовывали бляшки на 51–60% штаммов *S. aureus*. Однако при тестировании в жидкой среде в течение суток те же бактериофаги были способны подавить рост только 2–49% штаммов [25]. Некоторые авторы указывают на то, что тестирование фаговой активности в жидкой среде позволяет оценить динамику инфекции, но подтверждение роста фага и выявление фазорезистентных колоний микроорганизмов должны проводиться на твёрдых питательных средах [26].

Молекулярно-генетические механизмы, определяющие фаговую специфичность

Активность бактериофага в отношении штаммов микроорганизмов определяется возможностью реализации всех стадий его жизненного цикла, включая адсорбцию, проникновение генетического материала в клетку, репликацию генетического материала, сборку фаговых частиц и лизис бактерии [27]. На каждом этапе фаговой инфекции противостоят клеточные системы противовирусной защиты, включая системы abortивной инфекции, рестрикции-модификации и CRISPR/Cas [28, 29], для обхода которых существуют специализированные фаговые системы [30, 31]. Однако в качестве основных детерминант хозяйской специфичности бактериофагов часто рассматривают рецептор-связывающие белки и хвостовые фибриллы, задействованные на начальном этапе инфекции [32], причём значительный объём литературы посвящён изменению фаговой специфичности путём внесения мутаций в эти гены [33–35].

Для некоторых вирусов наблюдалась ассоциация между спектрами литической активности и положением на филогенетическом древе, построенном на основании последовательностей рецептор-связывающего белка [36].

Мутации, сопровождающие изменение хозяйской специфичности бактериофагов в экспери-

менте, не ограничиваются генами рецептор-связывающих белков и хвостовых фибрилл. В геномах фагов *S. aureus* с расширенными в ходе совместного культивирования спектрами литической активности было обнаружено до 20 сайтов рекомбинации. Гены белков хвостовых фибрилл и рецептор-связывающих белков не были затронуты. Рекомбинировавшие участки частично находились в генах с неизвестными функциями, частично — в модуле лизиса и длинных концевых повторах [25]. В экспериментах по адаптации бактериофага P14, выделенного на альфапротеобактерии *Aquamicrobium* spp., к бетапротеобактерии *Castellaniella* spp. было осуществлено совместное культивирование вируса и неспецифичной бактерии на протяжении 21 дня. К концу эксперимента в геноме бактериофага было обнаружено 18 мутаций, затрагивающих гены серин/треонин-специфичной протеинкиназы, ДНК-полимеразы, белков хвостовой трубки, внутренних белков вириона, белка хвостовых фибрилл и некодирующие последовательности.

Появление этих мутаций было связано с двукратным повышением выхода фаговых частиц на штамме *Castellaniella* spp. [37].

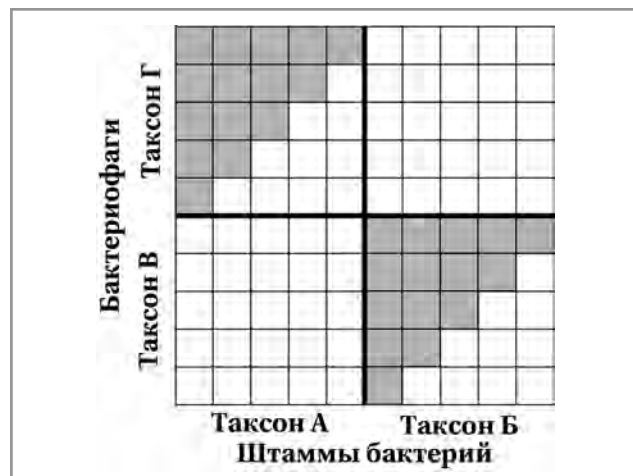
В исследовании, посвящённом экспериментальной коэволюции фага T7 и штамма *Escherichia coli* в пространственно структурированной среде, мутации, связанные с повышенным выходом фаговых частиц, были обнаружены в генах РНК-полимеразы, ингибитора хозяйской РНК-полимеразы, внутреннего белка вириона с эндוליзинным доменом и белка хвостовой трубки [38]. Стафилококковый бактериофаг Sb-1 успешно адсорбировался на поверхности фазорезистентных бактерий, что свидетельствовало о блокировке фаговой инфекции на более поздних стадиях жизненного цикла. Сравнение генома исходного вируса с геномами двух мутантов с расширенным спектром литической активности выявило множественные точечные замены, два события вставки/выпадения фрагмента нуклеотидной последовательности и гипервариабельный участок геномных повторов.

Авторы оригинального исследования рассматривали эту гипервариабельную область в качестве гипотетической детерминанты спектра литической активности [39]. Бактерию *Enterococcus faecium* и фаг EfV12-phi1 выращивали, пересевая два раза в день, на протяжении 8 дней. В ходе эксперимента штамм *E. faecium* развил устойчивость к бактериофагу за счёт мутаций в гене *yqwD2*, участвующем в синтезе и экспорте экзополисахаридов, и гене *groC*, кодирующем β'-субъединицу РНК-полимеразы. В ответ на устойчивость бактерий фаговый геном приобрёл дополнительные тандемные повторы длиной 1,8 т. п. н. в пределах гипотетического гена белка хвостовых фибрилл [40].

Значительную роль в определении успеха фаговой адгезии играет разнообразие и изменчивость компонентов клеточной поверхности. Например, начальные этапы жизненного цикла фагов *Klebsiella* зависят от разрушения бактериальной капсулы под действием полисахарид-деполимераз фаговых частиц. Иногда эти ферменты специфичны по отношению к одному типу капсул [41, 42]. Бактериофаги с широкими диапазонами действия могут нести несколько типов деполимераз [43]. Особенности строения фагового генома позволяют предсказывать вид бактерии, в отношении которой бактериофаг проявляет литическую активность, и к настоящему времени это направление получило значительное развитие [44, 45]. В самом простом случае, специфичность умеренного фага может быть предсказана поиском нуклеотидной последовательности его генома в депонированных геномах бактерий.

Паттерны и границы изменчивости спектров литической активности

Результат взаимодействия сложных и изменчивых молекулярных структур бактерии и вируса может быть представлен в бинарной форме как наличие или отсутствие инфекции. Распределение активности бактериофагов в соответствии с разнообразием бактериальных штаммов можно анализировать с привлечением методов сетевого анализа. В результатах экспериментальных исследований на эту тему можно найти модульные и вложенные (*англ.* nested) паттерны литических спектров. Модульный характер взаимодействий подразумевает наличие в выборке групп вирусов, преимущественно специфичных к отдельным группам бактерий. Напротив, в ситуации, когда узкоспецифичные бактериофаги лизируют бактерии, чувствительные к наибольшему числу вирусов, паттерн литических спектров характеризуется как вложенный. Считается, что вложенные паттерны преобладают в локальных микробных сообществах, в то время как выборки с широким географическим и таксономическим охватом показывают модульный характер взаимодействий [46]. Используя модульный паттерн спектров литической активности, D. Holtappels и соавт. [47] вводят понятия «внутренние» и «временные детерминанты хозяйской специфичности». Согласно их концепции, формирование модулей обусловлено различиями структуры клеточной стенки, систем транскрипции и трансляции и метаболизма между таксономическими группами хозяев. Адаптация к паразитированию на бактерии из другого модуля путём мутации или рекомбинации для бактериофагов представляется невозможным. Напротив, внутри модулей,



Концепция паттернов литической активности.

Примечание. Бактериофаги таксономической группы В проявляют литическую активность в отношении группы бактерий Б. Спектры литической активности определяются временными детерминантами специфичности. То же самое справедливо для бактериофагов группы Г и бактерий группы А. Таким образом, на иллюстрации представлены два модуля литических спектров. Внутри модулей имеют место вложенные паттерны литической активности. Для фаговых инфекций бактерий из неспецифичного модуля существует барьер в виде внутренних детерминант хозяйской специфичности.

Concept of lytic activity patterns.

Note. Bacteriophages of taxonomic group B exhibit lytic activity against group B bacteria. The spectra of lytic activity are determined by temporal determinants of specificity. The same is true for Bacteriophages of group G and bacteria of group A. Thus, the illustration shows two modules of lytic spectra. Nested patterns of lytic activity occur within modules. For phage infections of bacteria from a nonspecific module, there is a barrier in the form of internal determinants of host specificity.

на низком таксономическом уровне, проходят процессы совместной эволюции фагов и бактерий, сопровождающиеся, в частности, сменой специфичности [47] (рисунок).

При реализации вложенных паттернов спектров литической активности для уничтожения гетерогенной популяции бактерий может быть достаточно одного или нескольких фагов с широким диапазоном действия, и поэтому изучение структуры взаимодействий между бактериями и их вирусами полезно для рационального дизайна фаговых коктейлей [48, 49], хотя одним из обсуждаемых подходов фаготерапии является смена фагов для исключения их нейтрализации иммунной системой пациента [6, 50, 51]. Также структура взаимодействий бактерий и фагов теоретически может быть важна для понимания функционирования сложных паразитарных экосистем [52], включая природные очаги инфекций. Так, например, получены данные о зависи-

мости заболеваемости холерой в эндемичном регионе от динамики обнаружения *Vibrio cholerae* в водоёмах, определяемой активностью бактериофагов [53]. Экспрессия генов структурных белков бактериофага ϕ KZ обеспечивается работой двух собственных РНК-полимераз вируса и не зависит от бактериальных систем транскрипции. При этом вирус способен к размножению как на грамположительных, так и на грамотрицательных бактериях. Возможно, степень зависимости бактериофагов от хозяйских систем репликации и транскрипции является одним из факторов, определяющих ширину спектра литической активности [54] и наличие в геноме некоторых бактериофагов собственных компонентов систем, обеспечивающих прохождение матричных процессов, может стирать границы между внутренними и временными детерминантами специфичности.

Ширина спектра литической активности

Узкая специфичность бактериофагов по сравнению с антибиотиками является хорошо известным фактом, однако оценок средней ширины диапазона действия, характерной для фагов в целом или их отдельных групп не проводилось. Избирательность терапевтических фагов по отношению к своим мишеням является их преимуществом, поскольку она позволяет сохранить нормальную микробиоту человека. Одновременно узкие спектры литической активности осложняют подбор бактериофагов и влекут за собой необходимость создания и поддержания обширных коллекций вирусов. Подробный обзор проблематики и механизмов, определяющих ширину диапазонов действия, приведён в публикации [27]. Несмотря на то, что хозяйская специфичность может сильно различаться у генетически сходных фагов [55], значимым предиктором ширины спектра литической активности может рассматриваться таксономическая принадлежность бактериофагов [56–58].

В ряде исследований ширина спектра литической активности была связана с наличием в геноме фага нескольких генов рецептор-связывающих белков [59, 60]. Важным и нерешённым вопросом является распространённость спектров литической активности, охватывающих разные таксоны бактерий. Обзор работ, в которых спектры литической активности были изменены методами геной инженерии показывает, что их изменчивость ограничена порядками бактерий [34, 47]. Известны подовирусы семейства *Autographiviridae*, успешно размножающиеся на культурах разных видов бактерий из родов *Acinetobacter* [61], *Pectobacterium* [62] и *Yersinia* [63, 64]. Бактерио-

фаги, выделенные на штаммах *E.coli*, могут быть способны к размножению на *Shigella* spp. [65] и *Salmonella* spp. [66]. Все эти примеры указывают на то, что хотя бактериофаги, как правило, лизируют только часть штаммов вида, к которому принадлежит бактерия-хозяин, диапазоны действия, охватывающие разные таксономические группы бактерий, могут встречаться чаще, чем принято считать.

Географический фактор ширины спектра литической активности

При анализе работ, построенных на перекрёстном тестировании фагов и бактерий из географически удалённых местообитаний, создаётся впечатление, что адаптация фагов к локальным бактериям имеет большее значение по сравнению с развитием резистентности бактерий к локальным вирусам. Так, в экспериментах по перекрёстному инфицированию фаги азотфиксирующих бактерий *Rhizobium* spp. из Мексики и Аргентины проявляли большую активность в отношении локальных штаммов микроорганизмов [67]. Бактериофаг *A.baumannii* из Юго-западного госпиталя, расположенного в муниципалитете Чунцин (Китай), проявлял литическую активность в отношении всех 10 протестированных локальных изолятов (100%). Для 20 изолятов *A.baumannii*, происходящих из других частей страны, активность была выявлена только в отношении двух (10%) [68]. Бактериофаг QL01 был выделен в Нанкине (Китай, провинция Цзянсу) и протестирован на коллекции изолятов *E.coli*, полученных от больных уток. Бактериофаг обладал литической активностью в отношении 30 из 48 локальных изолятов (52%). Из 28 изолятов, происходивших из других провинций, лизированы были десять (36%) [69].

В другой работе, бактериофаги и бактерии *V.crassostreae* были выделены на устричных фермах возле Бреста (Франция) и Вестерланда (Германия). Доля инфицированных бактерий оказалась выше в том случае, когда фаги и бактерии происходили из одной и той же географической точки [70]. Неопределённые относительно вопроса о пространственном факторе результаты были получены с тайскими и японскими бактериофагами фитопатогена паслёновых *Ralstonia solanacearum*. В исследование были включены восемь тайских и шесть японских бактериофагов. Выборка бактерий также содержала японские и тайские изоляты. Фаги с наиболее широким диапазоном действия были тайскими, но если часть тайских фагов не проявляла активности в отношении какого-либо японского изолята, все японские фаги могли лизировать по меньшей мере 8%

тайской выборки бактерий [71]. Наконец, можно привести пример исследования, в котором бактериофаги из удалённого местообитания лизировали больший процент бактериальных штаммов по сравнению с местными штаммами. *Flavobacterium psychrophilum* — возбудитель заболеваний рыб, разводимых в аквакультуре. Бактериофаги были выделены из образцов воды, донных осадков и поражённых тканей, полученных на лососевых фермах Дании и Чили. Генетическое разнообразие бактерий было выше в Чили, но при тестировании фагов на объединённой выборке бактериальных изолятов из двух стран, датские показали более широкие спектры литической активности. На основании данных, полученных в исследовании, можно сделать вывод о том, что сходные местообитания в географически удалённых локациях могут служить источником бактериофагов с разной шириной спектра литической активности [72].

Заключение

Таким образом, оценка спектра литической активности бактериофагов в высокой степени зависит от используемой лабораторной методики. Стандартный спот-тест позволяет судить о литической активности фагового препарата, а не самого вируса, его положительные результаты не

обязательно свидетельствуют об активности бактериофага в отношении тестируемого штамма микроорганизма. В то же время важным преимуществом фаговых препаратов по сравнению с другими антимикробными агентами является размножение действующей субстанции в очаге инфекции, что обосновывает целесообразность оценки бляшкообразующей активности при тестировании терапевтических фаговых препаратов. Поиск бактериофагов, планируемых для использования в качестве противомикробных средств, вероятно, следует проводить в местообитаниях, географически приближенных к популяциям патогенных бактерий. В целом, понимание детерминант и закономерностей формирования спектров литической активности является одной из основ совершенствования подходов к использованию бактериофагов в качестве противомикробных средств.

Дополнительная информация

Благодарности. Авторы статьи благодарны заведующему отделом молекулярной микробиологии ФГБНУ «ИЭМ» Суворову А. Н. за конструктивные замечания по тексту рукописи.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2022-302 (20.04.2022).

Литература/References

1. Латаров А.В. История ранних исследований бактериофагов и рождение основных концепций вирусологии. Биохимия. 2020; 85 (9): 1189–1212. doi: <https://doi.org/10.1134/s0006297920090096>. [Latarov A.V. History of early bacteriophage research and emergence of key concepts in virology. Biochemistry (Moscow). 2020; 85 (9): 1093–1112. doi: <https://doi.org/10.1134/s0006297920090096>. (in Russian)]
2. Власов В.В., Тикунова Н.В., Морозова В.В. Бактериофаги как терапевтические препараты: что сдерживает их применение в медицине. Биохимия. doi: <https://doi.org/10.1134/s0006297920110061>. 2020; 85 (11): 1587–1600. [Vlassov V.V., Tikunova N.V., Morozova V.V. Bacteriophages as therapeutic preparations: what restricts their application in medicine. Biochemistry (Moscow). 2020; 85 (11): 1350–1361. doi: <https://doi.org/10.1134/s0006297920110061>. (in Russian)]
3. Skurnik M. Can bacteriophages replace antibiotics? Antibiotics (Basel). 2022; 11 (5): 575. doi: [10.3390/antibiotics11050575](https://doi.org/10.3390/antibiotics11050575).
4. Łusiak-Szelachowska M., Międzybrodzki R., Drulis-Kawa Z., Cater K., Knežević P., Winogradow C., et al. Bacteriophages and antibiotic interactions in clinical practice: what we have learned so far. J Biomed Sci. 2022;29(1):23. doi: [10.1186/s12929-022-00806-1](https://doi.org/10.1186/s12929-022-00806-1).
5. Pirnay J.P., Ferry T., Resch G. Recent progress toward the implementation of phage therapy in Western medicine. FEMS Microbiol Rev. 2022; 46 (1): fuab040. doi: [10.1093/femsre/ufab040](https://doi.org/10.1093/femsre/ufab040).
6. Аleshkin A.B., Селькова Е.П., Еришова О.Н., Савин И.А., Шкода А.С., Бочкарева С.С., и др. Концепция персонализированной фаготерапии пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии, страдающих инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи. Фундаментальная и клиническая медицина. 2018; 3 (2): 66–74. [Aleshkin A.V., Sel'kova E.P., Ershova O.N., Savin I.A., Shkoda A.S., Bochkareva S.S., et al. Concept of personalized phage therapy for intensive care unit patients with healthcare-associated infections. Fundamental and Clinical Medicine. 2018; 3 (2): 66–74. (in Russian)]
7. Theuretzbacher U., Piddock L.J.V. Non-traditional antibacterial therapeutic options and challenges. Cell Host Microbe. 2019; 26 (1): 61–72. doi: [10.1016/j.chom.2019.06.004](https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.06.004).
8. Hyman P., Abedon S.T. Bacteriophage host range and bacterial resistance. Adv Appl Microbiol. 2010; 70: 217–248. doi: [10.1016/S0065-2164\(10\)70007-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(10)70007-1).

9. Зуева Л.П., Асланов Б.И., Долгий А.А., Гончаров А.Е., Архангельский А.И. Бактериофаги-факторы эволюции госпитальных штаммов и средства борьбы с инфекциями. Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2012(1):9–13. [Zuyeva L.P., Aslanov B.I., Dolgiy A.A., Goncharov A.E., Arkhangelsky A.I. Bacteriophages are factors for evolution of nosocomial strains and means for combating infections. Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items. 2012; 1: 9–13. (in Russian)]
10. Асланов Б.И., Долгий А.А., Гончаров А.Е., Архангельский А.И. Роль бактериофагов в горизонтальном генетическом обмене среди возбудителей инфекций в стационарах. Профилактическая и клиническая медицина. 2012 (4): 38–41. [Aslanov B.I., Dolgiy A.A., Goncharov A.E., Arkhangelskiy A.I. Role of bacteriophages in horizontal genetic exchange among causative agents of infections in hospitals. Preventive and Clinical Medicine. 2012 (4): 38–41. (in Russian)]
11. Pirnay J.P., Blasdel B.G., Breteau L., Buckling A., Chanishvili N., Clark J.R., et al. Quality and safety requirements for sustainable phage therapy products. Pharm Res. 2015; 32 (7): 2173–2179. doi: [10.1007/s11095-014-1617-7](https://doi.org/10.1007/s11095-014-1617-7).
12. Ryan E.M., Gorman S.P., Donnelly R.E., Gilmore B.F. Recent advances in bacteriophage therapy: how delivery routes, formulation, concentration and timing influence the success of phage therapy. J Pharm Pharmacol. 2011; 63 (10): 1253–1264. doi: [10.1111/j.2042-7158.2011.01324.x](https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2011.01324.x).
13. Kornienko M., Kuptsov N., Gorodnichev R., Bespiatykh D., Guliaev A., Letarova M., et al. Contribution of Podoviridae and Myoviridae bacteriophages to the effectiveness of anti-staphylococcal therapeutic cocktails. Sci Rep. 2020; 10 (1): 18612. doi: [10.1038/s41598-020-75637-x](https://doi.org/10.1038/s41598-020-75637-x).
14. Mattila S., Ruotsalainen P., Jalasvuori M. On-demand isolation of bacteriophages against drug-resistant bacteria for personalized phage therapy. Front Microbiol. 2015; 6: 1271. doi: [10.3389/fmicb.2015.01271](https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01271).
15. Ross A., Ward S., Hyman P. More is better: selecting for broad host range bacteriophages. Front Microbiol. 2016; 7: 1352. doi: [10.3389/fmicb.2016.01352](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01352).
16. Casey E., van Sinderen D., Mahony J. In vitro characteristics of phages to guide, real life' phage therapy suitability. Viruses. 2018; 10 (4): 163. doi: [10.3390/v10040163](https://doi.org/10.3390/v10040163).
17. Allué-Guardia A., Saranathan R., Chan J., Torrelles J.B. Mycobacteriophages as potential therapeutic agents against drug-resistant tuberculosis. Int J Mol Sci. 2021; 22 (2): 735. doi: [10.3390/ijms22020735](https://doi.org/10.3390/ijms22020735).

18. Hyman P. Phages for phage therapy: isolation, characterization, and host range breadth. *Pharmaceuticals* (Basel). 2019; 12 (1): 35. doi: 10.3390/ph12010035.
19. Асланов Б.И., Зуева Л.П., Кафтырева Л.А., Бойцов А.Г., Акимкин В.Г., Долгий А.А. и др. Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противозидемической практике. Федеральные клинические рекомендации. М.: 2014; 39. [Aslanov B.I., Zuyeva L.P., Kaftyreva L.A., Boycov A.G., Akimkin V.G. et al. Ratsional'noe primenenie bakteriofagov v lechebnoi i protivoeidemicheskoi praktike. Federal'nye klinicheskie rekomendatsii. Moscow: 2014; 39. (in Russian)]
20. Melo L.D.R., Brandão A., Akturk E., Santos S.B., Azeredo J. Characterization of a new *Staphylococcus aureus* *Kayvirus* harboring a lysin active against biofilms. *Viruses*. 2018; 10 (4): 182. doi: 10.3390/v10040182.
21. Melo L.D.R., Sillankorva S., Ackermann H.W., Kropinski A.M., Azeredo J., Cerca N. Isolation and characterization of a new *Staphylococcus epidermidis* broad-spectrum bacteriophage. *J Gen Virol*. 2014; 95 (Pt 2): 506–515. doi: 10.1099/vir.0.060590-0.
22. Manohar P., Tamhankar A.J., Lundborg C.S., Nachimuthu R. Therapeutic characterization and efficacy of bacteriophage cocktails infecting *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter* species. *Front Microbiol*. 2019; 10: 574. doi: 10.3389/fmicb.2019.00574.
23. Imklin N., Nasanit R. Characterization of *Salmonella* bacteriophages and their potential use in dishwashing materials. *J Appl Microbiol*. 2020; 129 (2): 266–277. doi: 10.1111/jam.14617.
24. Turner D., Wand M.E., Briers Y., Lavigne R., Sutton J.M., Reynolds D.M. Characterisation and genome sequence of the lytic *Acinetobacter baumannii* bacteriophage vB_AbaS_Loki. *PLoS One*. 2017; 12 (2): e0172303. doi: 10.1371/journal.pone.0172303.
25. Sáez Moreno D., Visram Z., Mutti M., Restrepo-Córdoba M., Hartmann S., Kremers A.I. et al. ϵ^2 -phages are naturally bred and have a vastly improved host range in *Staphylococcus aureus* over wild type phages. *Pharmaceuticals* (Basel). 2021; 14 (4): 325. doi: 10.3390/ph14040325.
26. Glonti T., Pirnay J.P. *In vitro* techniques and measurements of phage characteristics that are important for phage therapy success. *Viruses*. 2022; 14 (7): 1490. doi: 10.3390/v14071490.
27. de Jonge P.A., Nobrega F.L., Brouns S.J.J., Dutilh B.E. Molecular and evolutionary determinants of bacteriophage host range. *Trends Microbiol*. 2019; 27 (1): 51–63. doi: 10.1016/j.tim.2018.08.006.
28. Rocha E.P.C., Bikard D. Microbial defenses against mobile genetic elements and viruses: who defends whom from what? *PLoS Biol*. 2022; 20 (1): e3001514. doi: 10.1371/journal.pbio.3001514.
29. Georjon H., Bernheim A. The highly diverse antiphage defence systems of bacteria. *Nat Rev Microbiol*. 2023; 21 (10): 686–700. doi: 10.1038/s41579-023-00934-x.
30. Samson J.E., Magadán A.H., Sabri M., Moineau S. Revenge of the phages: defeating bacterial defences. *Nat Rev Microbiol*. 2013; 11 (10): 675–687. doi: 10.1038/nrmicro3096.
31. Anandu S., Tanuj G. Anti-CRISPR: a defense strategy of bacteriophages against bacteria. *J. Entomol. Zool. Stud*. 2020; 8 (6): 1003–1010. doi: 10.22271/j.ento.2020.v8.i6n.7968.
32. Plattner M., Schneider N.S., Arbatsky N.P., Shashkov A.S., Chizhov A.O., Nazarov S., et al. Structure and function of the branched receptor-binding complex of bacteriophage CBA120. *J Mol Biol*. 2019; 431 (19): 3718–3739. doi: 10.1016/j.jmb.2019.07.022.
33. Dunne M., Rupf B., Tala M., Qabratl X., Ernst P., Shen Y., et al. Reprogramming bacteriophage host range through structure-guided design of chimeric receptor binding proteins. *Cell Rep*. 2019; 29 (5): 1336–1350.e4. doi: 10.1016/j.celrep.2019.09.062.
34. Dunne M., Prokhorov N.S., Loessner M.J., Leiman P.G. Reprogramming bacteriophage host range: design principles and strategies for engineering receptor binding proteins. *Curr Opin Biotechnol*. 2021; 68: 272–281. doi: 10.1016/j.copbio.2021.02.006.
35. Gil J., Paulson J., Brown M., Zahn H., Nguyen M.M., Eisenberg M., et al. Tailoring the host range of *Ackermannviridae* bacteriophages through chimeric tailspike proteins. *Viruses*. 2023; 15 (2): 286. doi: 10.3390/v15020286.
36. Lavelle K., Martinez I., Neve H., Lugli G.A., Franz C.M.A.P., Ventura M., et al. Biodiversity of *Streptococcus thermophilus* phages in global dairy fermentations. *Viruses*. 2018; 10 (10): 577. doi: 10.3390/v10100577.
37. de Leeuw M., Baron M., Ben David O., Kushmaro A. Molecular insights into bacteriophage evolution toward its host. *Viruses*. 2020; 12 (10): 1132. doi: 10.3390/v12101132.
38. Shaer Tamar E., Kishony R. Multistep diversification in spatiotemporal bacterial-phage coevolution. *Nat Commun*. 2022; 13 (1): 7971. doi: 10.1038/s41467-022-35351-w.
39. Sergueev K.V., Filippov A.A., Farlow J., Su W., Kvachadze L., Balarjishvili N., et al. Correlation of host range expansion of therapeutic bacteriophage Sb-1 with allele state at a hypervariable repeat locus. *Appl Environ Microbiol*. 2019; 85 (22): e01209-19. doi: 10.1128/AEM.01209-19.
40. Wandro S., Oliver A., Gallagher T., Weihe C., England W., Martiny J.B.H., et al. Predictable molecular adaptation of coevolving *Enterococcus faecium* and lytic phage Φ 12-phi1. *Front Microbiol*. 2019; 9: 3192. doi: 10.3389/fmicb.2018.03192.
41. Hsu C.R., Lin T.L., Pan Y.J., Hsieh P.F., Wang J.T. Isolation of a bacteriophage specific for a new capsular type of *Klebsiella pneumoniae* and characterization of its polysaccharide depolymerase. *PLoS One*. 2013; 8 (8): e70092. doi: 10.1371/journal.pone.0070092.
42. Pertics B.Z., Cox A., Nytil A., Szamek N., Kovács T., Schneider G. Isolation and characterization of a novel lytic bacteriophage against the K2 capsule-expressing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strain 52145, and identification of its functional depolymerase. *Microorganisms*. 2021; 9 (3): 650. doi: 10.3390/microorganisms9030650.
43. Pan Y.J., Lin T.L., Chen C.C., Tsai Y.T., Cheng Y.H., Chen Y.Y., et al. *Klebsiella* phage Φ K64-1 encodes multiple depolymerases for multiple host capsular types. *J Virol*. 2017; 91 (6): e02457-16. doi: 10.1128/JVI.02457-16.
44. Coclet C., Roux S. Global overview and major challenges of host prediction methods for uncultivated phages. *Curr Opin Virol*. 2021; 49: 117–126. doi: 10.1016/j.coviro.2021.05.003.
45. Lood C., Boeckaerts D., Stock M., De Baets B., Lavigne R., van Noort V., et al. Digital phagograms: predicting phage infectivity through a multilayer machine learning approach. *Curr Opin Virol*. 2022; 52: 174–181. doi: 10.1016/j.coviro.2021.12.004.
46. Flores C.O., Meyer J.R., Valverde S., Farr L., Weitz J.S. Statistical structure of host-phage interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011; 108 (28): E288–E297. doi: 10.1073/pnas.1101595108.
47. Holtappels D., Alfenas-Zerbini P., Koskella B. Drivers and consequences of bacteriophage host range. *FEMS Microbiol Rev*. 2023; 47 (4): fuad038. doi: 10.1093/femsre/fuad038.
48. Makalatia K., Kakabadze E., Bakuradze N., Grdzlishvili N., Stamp B., Herman E., et al. Investigation of *Salmonella* phage-bacteria infection profiles: network structure reveals a gradient of target-range from generalist to specialist phage clones in nested subsets. *Viruses*. 2021; 13 (7): 1261. doi: 10.3390/v13071261.
49. Molina F., Simancas A., Ramírez M., Tabla R., Roa I., Rebollo J.E. A new pipeline for designing phage cocktails based on phage-bacteria infection networks. *Front Microbiol*. 2021; 12: 564532. doi: 10.3389/fmicb.2021.564532.
50. Harper D.R. Selection of disease targets for phage therapy. In: Harper D., Abedon S., Burrows B., McConville M. (eds) *Bacteriophages*. Cham: Springer; 2020. doi: 10.1007/978-3-319-40598-8_42-1.
51. Popescu M., Van Bellegem J.D., Khosravi A., Bollyky P.L. Bacteriophages and the immune system. *Annu Rev Virol*. 2021; 8 (1): 415–435. doi: 10.1146/annurev-virology-091919-074551.
52. Weitz J.S., Poisot T., Meyer J.R., Flores C.O., Valverde S., Sullivan M.B., et al. Phage-bacteria infection networks. *Trends Microbiol*. 2013; 21 (2): 82–91. doi: 10.1016/j.tim.2012.11.003.
53. Faruque S.M., Naser I.B., Islam M.J., Faruque A.S., Ghosh A.N., Nair G.B., et al. Seasonal epidemics of cholera inversely correlate with the prevalence of environmental cholera phages. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102 (5): 1702–1707. doi: 10.1073/pnas.0408992102.
54. Ceyssens P.J., Minakhin L., Van den Bossche A., Yakunina M., Klimuk E., Blasdel B., et al. Development of giant bacteriophage Φ KZ is independent of the host transcription apparatus. *J Virol*. 2014; 88 (18): 10501–10510. doi: 10.1128/JVI.01347-14.
55. Ceyssens P.J., Glonti T., Kropinski N.M., Lavigne R., Chanishvili N., Kulakov L., et al. Phenotypic and genotypic variations within a single bacteriophage species. *Virol J*. 2011; 8: 134. doi: 10.1186/1743-422X-8-134.
56. Jacobs-Sera D., Marinelli L.J., Bowman C., Broussard G.W., Guerrero Bustamante C., Boyle M.M., et al. On the nature of mycobacteriophage diversity and host preference. *Virology*. 2012; 434 (2): 187–201. doi: 10.1016/j.virol.2012.09.026.
57. Oliveira J., Mahony J., Hanemaaijer L., Kouwen T.R.H.M., van Sinderen D. Biodiversity of bacteriophages infecting *Lactococcus lactis* starter cultures. *J Dairy Sci*. 2018; 101 (1): 96–105. doi: 10.3168/jds.2017-13403.
58. Gencay Y.E., Gambino M., Prüssing T.E., Brøndsted L. The genera of bacteriophages and their receptors are the major determinants of host range. *Environ Microbiol*. 2019; 21 (6): 2095–2111. doi: 10.1111/1462-2920.14597.
59. Schwarzer D., Buettner F.F., Browning C., Nazarov S., Rabsch W., Bethe A., et al. A multivalent adsorption apparatus explains the broad host range of phage ϕ 92: a comprehensive genomic and structural analysis. *J Virol*. 2012; 86 (19): 10384–10398. doi: 10.1128/JVI.00801-12.
60. Takeuchi I., Osada K., Azam A.H., Asakawa H., Miyazawa K., Tanji Y. The presence of two receptor-binding proteins contributes to the wide host range of staphylococcal Twort-like phages. *Appl Environ Microbiol*. 2016; 82 (19): 5763–5774. doi: 10.1128/AEM.01385-16.
61. Oliveira H., Costa A.R., Konstantinides N., Ferreira A., Akturk E., Sillankorva S. et al. Ability of phages to infect *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter*

- baumannii* complex species through acquisition of different pectate lyase depolymerase domains. Environ Microbiol. 2017; 19 (12): 5060–5077. doi: 10.1111/1462-2920.13970.
62. Zaczek-Moczydlowska M.A., Young G.K., Trudgett J., Plahe C., Fleming C.C., Campbell K., et al. Phage cocktail containing *Podoviridae* and *Myoviridae* bacteriophages inhibits the growth of *Pectobacterium* spp. under *in vitro* and *in vivo* conditions. PLoS One. 2020;15 (4):e0230842. doi: 10.1371/journal.pone.0230842.
 63. Salem M., Virtanen S., Korkeala H., Skurnik M. Isolation and characterization of *Yersinia*-specific bacteriophages from pig stools in Finland. J Appl Microbiol. 2015; 118 (3): 599–608. doi: 10.1111/jam.12722.
 64. Jun J.W., Park S.C., Wicklund A., Skurnik M. Bacteriophages reduce *Yersinia enterocolitica* contamination of food and kitchenware. Int J Food Microbiol. 2018; 271: 33–47. doi: 10.1016/j.jfoodmicro.2018.02.007.
 65. Sváb D., Falgenhauer L., Rohde M., Chakraborty T., Tóth I. Identification and characterization of new broad host-range rV5-like coliphages C203 and P206 directed against enterobacteria. Infect Genet Evol. 2018; 64: 254–261. doi: 10.1016/j.meegid.2018.07.004.
 66. Khan Mirzaei M., Buenaventura E., Suttle C.A. Isolation of phages for phage therapy: a comparison of spot tests and efficiency of plating analyses for determination of host range and efficacy. PLoS One. 2015; 10 (3): e0118557. doi: 10.1371/journal.pone.0118557.
 65. Comeau A.M., Buenaventura E., Suttle C.A. A persistent, productive, and seasonally dynamic vibriophage population within Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). Appl Environ Microbiol. 2005; 71 (9): 5324–5331. doi: 10.1128/AEM.71.9.5324-5331.2005.
 66. Liu M., Hernandez-Morales A., Clark J., Le T., Biswas B., Bishop-Lilly K.A., et al. Comparative genomics of *Acinetobacter baumannii* and therapeutic bacteriophages from a patient undergoing phage therapy. Nat Commun. 2022; 13 (1): 3776. doi: 10.1038/s41467-022-31455-5.
 67. Van Cauwenberghe J., Santamaría R.I., Bustos P., Juárez S., Ducci M.A., Figueroa Fleming T., et al. Spatial patterns in phage-*Rhizobium* coevolutionary interactions across regions of common bean domestication. ISME J. 2021; 15 (7): 2092–2106. doi: 10.1038/s41396-021-00907-z.
 68. Yang Z., Liu X., Shi Y., Yin S., Shen W., Chen J., et al. Characterization and genome annotation of a newly detected bacteriophage infecting multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Arch Virol. 2019; 164 (6): 1527–1533. doi: 10.1007/s00705-019-04213-0.
 69. Xu J., Chen M., He L., Zhang S., Ding T., Yao H., et al. Isolation and characterization of a T4-like phage with a relatively wide host range within *Escherichia coli*. J Basic Microbiol. 2016; 56 (4): 405–421. doi: 10.1002/jobm.201500440.
 70. Piel D., Bruto M., Labreuche Y., Blanquart F., Goudenège D., Barcia-Cruz R., et al. Phage-host coevolution in natural populations. Nat Microbiol. 2022; 7 (7): 1075–1086. doi: 10.1038/s41564-022-01157-1.
 71. Bhunchoth A., Phironrit N., Leksomboon C., Chatchawanphanich O., Kotera S., Narulita E., et al. Isolation of *Ralstonia solanacearum*-infecting bacteriophages from tomato fields in Chiang Mai, Thailand, and their experimental use as biocontrol agents. J Appl Microbiol. 2015; 118 (4): 1023–1033. doi: 10.1111/jam.12763.
 72. Castillo D., Christiansen R.H., Espejo R., Middelboe M. Diversity and geographical distribution of *Flavobacterium psychrophilum* isolates and their phages: patterns of susceptibility to phage infection and phage host range. Microb Ecol. 2014; 67 (4): 748–757. doi: 10.1007/s00248-014-0375-8.

Информация об авторах

Пчелин Иван Михайлович — к. б. н., научный сотрудник лаборатории инновационных методов микробиологического мониторинга, научно-образовательный центр «Молекулярные основы взаимодействия микроорганизмов и человека» научного центра мирового уровня «Центр персонализированной медицины», ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3062-3316. eLIBRARY SPIN-код: 9594-5250

Гончаров Артемий Евгеньевич — д. м. н., заведующий лабораторией функциональной геномики и протеомики микроорганизмов ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; профессор кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Россия; доцент кафедры фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-5206-6656. eLIBRARY SPIN-код: 7909-5446

Асланов Батырбек Исмаилович — д. м. н., доцент, заведующий кафедрой эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-6890-8096. eLIBRARY SPIN-код: 3787-6898

Азаров Даниил Валерьевич — к. м. н., заведующий лабораторией инновационных методов микробиологического мониторинга, научно-образовательный центр «Молекулярные основы взаимодействия микроорганизмов и человека» научного центра мирового уровня «Центр персонализированной медицины», ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Санкт-Петербург, Россия; ассистент кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0003-2483-5144. eLIBRARY SPIN-код: 4322-7857

About the authors

Ivan M. Pchelin — Ph.D. in Biology, Researcher at the Laboratory of Innovative Methods in Microbiological Monitoring, Scientific and Educational Center «Molecular Basis of Interaction between Microorganisms and Humans» of the world-class scientific center «Center for Personalized Medicine», Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3062-3316. eLIBRARY SPIN: 9594-5250

Artemiy E. Goncharov — D. Sc. in Medicine, Head of Laboratory of Functional Genomics and Proteomics of Microorganisms, Institute of Experimental Medicine; Professor of the Department of Epidemiology, Parasitology, and Disinfectology, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia; Associate Professor at the Department of Fundamental Problems of Medicine and Medical Technologies, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-5206-6656. eLIBRARY SPIN: 7909-5446

Batyrbek I. Aslanov — D. Sc. in Medicine, Associate Professor, Head of the Department of Epidemiology, Parasitology, and Disinfectology, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-6890-8096. eLIBRARY SPIN: 3787-6898

Daniil V. Azarov — Ph. D. in Medicine, Head of laboratory of Laboratory of Innovative Methods in Microbiological Monitoring, Scientific and Educational Center «Molecular Basis of Interaction between Microorganisms and Humans» of the world-class scientific center «Center for Personalized Medicine», Institute of Experimental Medicine; Teaching Assistant at the Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-2483-5144. eLIBRARY SPIN: 4322-7857

Удлинение интервала QT при лечении лекарственно-устойчивого туберкулёза

А. В. КУКУРИКА

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» МЗ РФ, Москва, Россия

QT-Interval Prolongation in the Treatment of Drug-Resistant Tuberculosis

ANASTASIIA V. KUKURIKA

National Medical Research Center of Phthisiopulmonology and Infectious Diseases, Moscow, Russia

Резюме

В обзоре проанализированы научные статьи, руководства и результаты клинических испытаний о влиянии фторхинолонов, бедаквилина, нитроимидазолов и клофазимина на удлинение интервала QT. Представлена значимость своевременного и регулярного мониторинга кардиотоксичности и важность продолжения клинических испытаний для открытия противотуберкулёзных препаратов с удовлетворительным профилем безопасности.

Ключевые слова: кардиотоксичность; удлинение интервала QTc; химиотерапия туберкулёза; МЛУ/ШЛУ-ТБ

Для цитирования: Кукурика А. В. Удлинение интервала QT при лечении лекарственно-устойчивого туберкулёза. *Антибиотики и химиотер.* 2023; 68 (11–12): 67–74. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-67-74>.

Abstract

The review analyzes the research articles, guidelines, and clinical trial results on the effect of fluoroquinolones, bedaquiline, nitroimidazoles, and clofazimine on QTc prolongation. The importance of timely and regular monitoring of cardiotoxicity and the importance of continuing clinical trials for the discovery of anti-tuberculosis drugs with a satisfactory safety profile are presented.

Keywords: cardiac toxicity; prolongation of QTc interval; tuberculosis chemotherapy; MDR/XDR-TB

For citation: Kukurika A. V. QT-interval prolongation in the treatment of drug-resistant tuberculosis. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2023; 68 (11–12): 67–74. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-67-74>.

Введение

Среди нежелательных побочных реакций (НПР), возникающих при лечении больных туберкулёзом с множественной и широкой лекарственной устойчивостью (МЛУ/ШЛУ-ТБ), одним из серьёзных осложнений является синдром удлинённого интервала QT (СУИ QT). Несмотря на высокий риск респираторно-кардиальной коморбидности у больных туберкулёзом [1, 2], СУИ QT имеет большое клиническое значение, поскольку ассоциирован с внезапной сердечной смертью (ВСС) вследствие развития фатальных желудочковых аритмий, в том числе, полиморфной желудочковой тахикардии (ЖТ) типа «пируэт», получившей название torsade de pointes (TdP) [3–6]. На длительность интервала QT влияют множество факторов, среди которых особое внимание уделяется приёму лекарственных средств (ЛС) [7–11].

Длительность интервала QT в норме коррелирует с частотой сердечных сокращений (ЧСС), что вызывает необходимость его коррекции. В рамках внедрения новых ЛС и коротких режимов химиотерапии МЛУ/ШЛУ-ТБ для расчёта скорректированного QT (QTc) рекомендуется формула Fredericia (QTcF). В руководствах [12, 13] отмечается, что значения QTcF более 450 мс у мужчин и 470 мс у женщин или одномоментное увеличение интервала на >60 мс от базового значения (Δ QTc) обуславливает необходимость контроля электролитного баланса и более частого мониторинга ЭКГ. Удлинение QTcF более 500 мс считается жизнеугрожающим, поэтому рекомендуется прекращение дальнейшего приёма ЛС, провоцирующих СУИ QT.

Среди ЛС для лечения МЛУ/ШЛУ-ТБ кардиотоксическими свойствами обладают фторхинолоны — левофлоксацин (Lfx) и моксифлоксацин (Mfx); диарилхинолон бедаквилин (Bdq),

© А. В. Кукурика, 2023

*Адрес для корреспонденции: ул. Достоевского, д. 4., НМИЦФИЗ, Москва, Россия, 127473.
E-mail: nastya_kukurika@mail.ru

© A. V. Kukurika, 2023

*Correspondence to: 4 Dostoyevskogo st., National Medical Research Center of Phthisiopulmonology and Infectious Diseases, Moscow, 127473 Russia. E-mail: nastya_kukurika@mail.ru

нитроимидазолы деламанад (Dlm) и претома-
нид (Pa), липофильный риминофеназин (проти-
волепрозный препарат) клофазимин (Cfz).

Цель обзора — обобщение данных литера-
туры о влиянии химиотерапии МЛУ/ШЛУ-ТБ на
развитие СУИ QT.

Фторхинолоны

Фторхинолоны используются для лечения ту-
беркулёза с 90-х гг., поэтому об их влиянии на QT
известно давно. Представители данного класса
удлиняют интервал QT, блокируя потенциал-
управляемые калиевые каналы (КК), особенно
«быстрый» компонент задержанного выпрями-
тельного тока калия IKr, экспрессируемый геном
human ether-a-go-go-related (HERG) [14]. При ис-
следованиях фторхинолонов на предмет способ-
ности взаимодействовать с КК HERG [15], наибо-
лее активным был спарфлоксацин, наименее —
офлоксацин. Между ними в порядке убывания ак-
тивности расположились грепафлоксацин, мок-
сифлоксацин, гатифлоксацин, левофлоксацин,
ципрофлоксацин. Эти результаты объясняют ме-
ханизм удлинения интервала QT, наблюдаемый
клинически при использовании спарфлоксацина
и некоторых других фторхинолонов, поскольку
уровень этих препаратов в плазме после терапев-
тических доз приближается к концентрациям, ин-
гибирующим токи канала HERG. У здоровых субъ-
ектов Mfx удлиняет интервал QTc, связываясь с
ароматическим остатком Tyr652 в поровом домене
S6 КК HERG. В случае левофлоксацина, ципроф-
локсацина и офлоксацина ингибирование HERG
происходит при концентрациях, намного превы-
шающих терапевтические [16]. В другом исследо-
вании ципрофлоксацин и левофлоксацин не по-
казали повышенного риска развития TdP, а Mfx
хотя и демонстрировал удлинение QTc, не способ-
ствовал кардиотоксичности [17].

Согласно данным авторов [18–20], Mfx в боль-
шей мере влияет на удлинение интервала QTc,
чем Lfx и другие используемые в клинической
практике фторхинолоны, а кардиотоксичность
является дозозависимым показателем. В тера-
певтических дозах Mfx удлиняет QTc, однако
риски TdP являются минимальными [21–24]. В
исследованиях разработана модель SLOPE, свя-
зывающая увеличение QT как линейную функ-
цию от концентрации, которая обеспечивала
лучшее описание фармакодинамического эф-
фекта Mfx [25]. Максимальный эффект Mfx про-
являлся во временном окне между 1 и 4 часами
после введения дозы [26]. Онлайн-база данных
CredibleMeds классифицирует Lfx и Mfx как
TdP (!), согласно алгоритму кардиологического
риска, препараты удлиняют интервал QT и свя-
заны с известным риском TdP [27].

В 64 рандомизированных плацебoreгулируе-
мых исследованиях 21 298 пациентов получали
пероральную и внутривенную терапию Mfx, ча-
стота возникновения НПР со стороны сердца
была аналогичной пациентам в группе сравне-
ния. Возникшие в связи с лечением кардиоток-
сические реакции были редки, при лечении Mfx
умер лишь 1 пациент [28].

Значительная пролонгация QT (30–60 мс) и
ЖТ TdP были зарегистрированы при наличии
факторов риска, связанных с пациентом: пожи-
лой возраст, женский пол, низкая фракция вы-
броса, гипертрофия левого желудочка, ишемия,
брадикардия, гипотермия, гипокалиемия и гипо-
магниемия [29–31]. Согласно авторам [32–34], раз-
личные паттерны реполяризации после введения
Lfx и Mfx предполагают половую разницу, которая
может быть связана с ингибирующими свой-
ствами IKr Mfx по сравнению с Lfx. Эквивалентное
ингибирование IKr и IKs выражено у жен-
щин больше, чем у мужчин, что обусловлено
влиянием половых гормонов на экспрессию сер-
дечных ионных каналов и различия в продолжи-
тельности интервала QT.

Согласно данным литературы, опасность
развития ЖТ типа TdP при применении фторхи-
нолонов может возрастать в отношении больных
старших возрастных групп, женщин, при сопут-
ствующей кардиологической патологии, при
применении ЛС, увеличивающих длительность
QT или замедляющих сердечный ритм, ведущих
к нарушению электролитного баланса, а также
при сочетании препаратов, конкурирующих на
путях метаболизма и изменяющих концентрации
друг друга. При лечении Q следует учитывать вы-
шеперечисленные факторы и вести электрокар-
диографический мониторинг.

Бедаквилин

Бедаквилин был одобрен FDA в конце 2012 г.,
зарегистрирован в РФ — в 2013 г. Патогенез удли-
нения QTc связан с ингибированием КК HERG.
Несмотря на высокую эффективность лечения
МЛУ/ШЛУ ТБ, особое внимание уделяется во-
просу актуальных режимов химиотерапии, вклю-
чающих другие кардиотоксические препа-
раты [35–38]. По данным ВОЗ [39], более чем у двух
третей больных не наблюдается удлинение QTc
на фоне лечения Bdq. Примерно у 20% пациентов
зарегистрирован QTc между 450–480 мс, у 5,1% —
между 481–500 мс, у 4,7% — более 500 мс.

G. J. Fox и D. A. Menzies [40] провели монито-
ринг фазы II клинических испытаний Bdq, кото-
рый выявил среднее удлинение QTc на 15,4 мс в
течение первых 24 нед. (QTc составлял от 450 мс
до 500 мс у 22,5%) и на 7,7 мс среди пациентов,
принимавших плацебо (у 6,7%), в первом и вто-

ром исследованиях. В третьем исследовании у одного пациента, принимавшего Bdq, QTc превышал 500 мс, а у 9 из 233 пациентов (3,9%) отмечено одномоментное увеличение QTc более чем на 60 мс. В анализе подгрупп в третьем исследовании по истечении 24 нед. медиана пролонгации QTc была больше у пациентов, принимавших Bdq и Cfz (32 мс), чем у пациентов, принимавших только Bdq (12,3 мс). Удлинение QTc обычно происходило в течение первых 8 нед. и стабилизировалось к 24-м неделям в объединённых данных двух исследований фазы II. Ни в одном из трёх исследований на сегодняшний день не наблюдалось эпизодов TdP, хотя одна смерть в группе принимающих Bdq была вызвана инфарктом миокарда.

А. Н. Diacon и соавт. [41] в исследовании фазы IIb сообщают, что на 24-й неделе среднее удлинение QTcF по сравнению с исходным уровнем составило 15,4 мс в группе Bdq и 3,3 мс в группе плацебо. Только у 1 пациента в группе Bdq было удлинение QTcF более чем на 500 мс по сравнению с отсутствием таковых в группе плацебо. Не наблюдалось прямой связи между концентрацией Bdq или метаболита бедаквилаина (M2) в плазме и соответствующими абсолютными значениями QTcF или изменениями QTcF. Сообщений о клинически значимой ЖТ во время исследования не поступало. В 14-дневном исследовании бактерицидной активности Bdq ни у одного пациента не было зарегистрировано одномоментных отклонений QTcF от исходного уровня >60 мс или QTc >500 мс [42].

Согласно исследованиям L. Guglielmetti и соавт. [43], у 11% больных из 40, получающих Bdq, наблюдалось удлинение QTcF >500 мс, у 3 пациентов препарат был отменён безвозвратно. Среди 1044 пациентов, пролеченных Bdq, и 220 пациентов, получавших Dlm, не наблюдалось ни одного смертельного случая вследствие кардиотоксичности [44]. У 10 пациентов при одновременном использовании Bdq и Dlm более 24 нед., переносимость была удовлетворительной, QTcF >500 мс был зарегистрирован в двух случаях одновременного приёма нескольких препаратов, удлиняющих интервал QT, однако в целом кардиологическая безопасность у этих пациентов была хорошей [45].

М. Tadolini и соавт. [46, 47] сообщают об удлинении QTc в течение недели лечения у больного ШЛУ ТБ, принимающего схему Bdq+Dlm+Cfz. Эксперты TB Consilium сочли Bdq виновником кардиотоксичности и рекомендовали прекратить его приём, поскольку Cfz требуется несколько недель для пролонгации QTc из-за его специфической фармакокинетики. У пациента наблюдалась гипокалиемия, которая также могла усиливать кардиотоксический эффект. После электролитной коррекции удлинение интервала QT оставалось

в допустимых пределах (менее 500 мс), поэтому Bdq был возобновлён в сочетании с 40 мг верапамила три раза в день.

Е. Pontali и соавт. [48] провели анализ результатов различных исследований, где принимали участие 1303 больных, получавших Bdq. Удлинение QTc более 500 мс наблюдалось у 3,2% больных, у 0,6% препарат отменён по причине кардиотоксичности. По данным N. Ndjeka и соавт. [49], среди 91 больного, получавшего Bdq, удлинение QTcF >500 мс наблюдалось у 3 человек, у 1 препарат отменён после фибрилляции предсердий.

Согласно отечественным авторам [50–53], Bdq имеет удовлетворительный профиль безопасности и позиционируется как ключевой препарат в схемах лечения МЛУ/ШЛУ ТБ.

Также в недавних исследованиях [54–56] сообщается о соединении TBAJ-876 — 3,5-диалкоксипиридиновом аналоге Bdq, которое вступило в I фазу клинических испытаний с первым субъектом, получившим дозу 8 июня 2020 г. В моделях на животных диарилхинолон нового поколения оказался более эффективным и сильнодействующим в отношении микобактерии туберкулёза (МБТ) в минимальных клинических дозах, имел более низкий кардиотоксический потенциал за счёт меньшего ингибирования КК HERG.

Нитроимидазолы

Деламанид стал вторым противотуберкулёзным препаратом после бедаквилаина, открытым за 40 лет. В 2014 г. впервые получил одобрение регулирующих органов в Японии и Европе для лечения взрослых пациентов с МЛУ-ТБ в рамках схем комбинированного лечения. В 2014 г. ВОЗ опубликовала временное руководство по использованию Dlm [57], а в 2015 г. препарат добавлен в перечень основных лекарственных средств. Dlm метаболизируется альбумином плазмы, механизм удлинения QTc связан с влиянием метаболита DM-6705 на клетки HEK-293 и CHO-K1, которые экспрессируют КК HERG [58]. ВОЗ сообщает о лекарственном взаимодействии с другими ЛС, особенно с фторхинолонами, Bdq, Cfz, ритонавиром, поэтому основное внимание при лечении Dlm необходимо уделять мониторингу ЭКГ и электролитного баланса [59].

По данным А. Н. Diacon и соавт. [60], в 14-дневном исследовании, где принимали участие 48 пациентов, только у одного больного зарегистрирован QTc 463 мс при суточной дозе Dlm 200 мг в сутки. В 6-месячном исследовании из 53 больных у 3 отмечался СУИ QTc [61]. В Южной Корее из 32 пациентов у 3 выявлено удлинение QTcF >500 мс [62].

В исследовании М. Т. Gler и соавт. [63] Dlm тестировался в дозах 100 или 200 мг дважды в день у 481 больного. Частота удлинения интервала QTc

была выше в группе, получавшей 200 мг два раза в день (13,1%), чем в группе, получавшей 100 мг два раза в день (9,9%), и оба показателя были выше, чем в группа плацебо (3,8%). Были выявлены сопутствующие состояния, которые усугубляют кардиотоксичность, в частности гипокалиемия, которая возникала в результате использования инъекционных ПТП.

Н. А. Blair и соавт. [64] сообщают в своём исследовании о результатах клинических испытаний фазы II с участием взрослых пациентов с МЛУ-ТБ, принимавших Dlm в дозе 100 мг два раза в день в течение 2 и 6 мес. Частота удлинения интервала QTc была выше по сравнению с другими ПТП, однако тяжёлых НПР не наблюдалось.

R. Gupta и соавт. [65] исследовали влияние Dlm в комбинации с другими препаратами второго ряда на QTcF. Пик удлинения QTcF достигался на 8-й неделе и снижался в течение 4 нед. после окончания лечения. Совместное применение с фторхинолонами и/или Cfz не оказывало значительного влияния на QTcF. Сделаны выводы, что удлинение QTcF было допустимым и хорошо контролируемым.

Согласно данным J. Hafkin и соавт. [66], среди 78 испытуемых у 3 (3,8%) больных, получавших Dlm в дозе 50 мг дважды в день, наблюдалось удлинение QTc > 500 мс. Все три пациента получали Cfz, один пациент — Bdq, у двух пациентов была сопутствующая гипокалиемия. У всех трёх пациентов удлинение интервала QT разрешилось без дальнейших клинических последствий, двое завершили 24-недельный курс лечения.

Е. Mohr и соавт. [67] сообщают о 7 случаях удлинения QTcF выше нормы среди 103 больных, 2 из которых превышали 500 мс, что привело к отмене Dlm у одного из больных. В этом же исследовании зарегистрировано 14 случаев удлинения QTcF > 60 мс по сравнению с базовым значением, однако ни один из них не превышал 500 мс, 8 пациентов принимали другие кардиотоксические ПТП (Bdq, Cfz).

G. Ferlazzo и соавт. [68], S. F. K. Lee и соавт. [69], G. B. Migliori и соавт. [70] изучили комбинацию Bdq с Dlm. По мнению авторов, существуют опасения при использовании схем с обеими препаратами, однако исследования не выявили аддитивных или синергических эффектов удлинения QTcF.

Также некоторые авторы [71] сообщают об отсутствии удлинения QTc на фоне лечения Dlm. Среди 19 больных в Латвии за 6 мес. лечения ни у одного QTcF не превышал 500 мс, что было реже ожидаемых результатов. В обзорах [72, 73] описывается хорошая переносимость и отсутствие кардиотоксического влияния Dlm. Изучено лекарственное взаимодействие Dlm с тенофовиром, эфавиренцем, лопиновином/ритонавиром, клинически значимых изменений на ЭКГ выявлено не было [74].

Схемы с Dlm используются в отечественной практике. А. О. Марьяндышев и др. [75] описывают результаты применения Dlm в Чеченской Республике и Архангельской области. Среди 48 пациентов у 12 выявлено удлинение QTc, только у 1 превышающее 500 мс, отмена препарата не производилась. В статье А. О. Марьяндышева с зарубежными соавторами [76] сообщается о 5 больных, принимавших Bdq с Dlm. У 2 пациентов отмечалось удлинение QT без аритмий. А. Г. Наумов и А. В. Павлушин [77] исследовали профиль кардиологической безопасности Dlm, по данным обзора, удлинению QTc способствовали схемы с высокой дозой Dlm и другими кардиотоксическими препаратами, особенно Bdq.

Претоманид стал третьим новым ПТП за 4 десятилетия, вторым представителем класса нитроимидазолов, утверждённым Food and Drug Administration в 2019 г. [78] и прошедшим предварительную квалификацию ВОЗ в 2020 г. Открытие Pa способствовало активизации клинических испытаний, а регулирующие органы утвердили не только сам препарат, но и схему BPaL (бедаквилин+претоманид+лизезолид). Учитывая исследуемые комбинации Pa с Bdq, Mfx и Cfz, изучением профиля кардиологической безопасности занимаются многие учёные [79–84].

M. Li и соавт. [85] изучили влияние монотерапии Pa (400 и 1000 мг) и комбинации Pa (400 мг) с Mfx (400 мг) на интервал QTc у 74 субъектов. Моксифлоксацин не влиял на фармакокинетику Pa, а действие комбинации препаратов соответствовало эффекту одного Mfx. Супратерапевтическая доза Pa по сравнению с рекомендуемой в настоящее время имела благоприятный профиль сердечной безопасности. Однако по данным H. Li и соавт. [86] на фоне лечения BPaL из-за дополнительного воздействия метаболита бедаквилина M2 отмечено увеличение QTc от 13,6 мс до 15,0 мс.

В 6-месячном исследовании NiX-ТВ (BPaL) из 109 больных у 6 пациентов наблюдалось QTc (5 лёгкой степени тяжести, 1 — средней). Один пациент пережил обморок. Ни у одного пациента QTcF не превышал 480 мс. У 1 (0,9%) пациента отмечено увеличение QTcF более чем на 60 мс от исходного уровня. Все больные завершили полный курс лечения [87].

А. Н. Diason и соавт. [88] сообщают о 14-дневном исследовании семи параллельных групп по 15 человек, где изучались схемы BPaZ (бедаквилин + претоманид + пипразинамид), BPaZC (бедаквилин + претоманид + пипразинамид + клофазимин), BPaC (бедаквилин + претоманид + клофазимин). QTcF увеличивался во всех группах, однако не превышал 500 мс. Увеличение QTcF по сравнению с исходным уровнем более 60 мс было зарегистрировано у 4 пациентов (26,7%) в группе BPaC.

Данные литературы свидетельствуют, что нитроимидазолы могут способствовать удлинению QTс, в частности, при лечении комбинированными схемами с Bdq, Cfz, фторхинолонами. Руководства рекомендуют вести мониторинг ЭКГ и электролитного баланса.

Клофазимин

Клофазимин изначально разрабатывался для лечения туберкулеза, однако неутешительный профиль безопасности послужил сдерживающим фактором для клинического применения, с 1962 г. широко используется для лечения лепры. Подобно другим ЛС, Cfz является мощным ингибитором передачи сигналов по K_K HERG, практически полное подавление которого происходит при субтерапевтических концентрациях [89]. Выявлена потенциальная неблагоприятная протромботическая активность Cfz, которая может предрасполагать пациентов с МЛУ/ШЛУ-ТБ к развитию сердечной дисфункции [90].

S. H. Choudhri и соавт. [91] впервые сообщают в своём исследовании о случае удлинения QTс на 60 мс и развития ЖТ типа TdP у 66-летнего больного, который лечился от рецидивирующей узловой лепрозной эритемы Cfz в дозе 300 мг в сутки. Авторы связывают кардиотоксическую реакцию с электролитным нарушением — гипомagneмией, которая была купирована лидокаином и сульфатом магния.

Согласно данным A. H. Diacon и соавт. [42], 105 пациентов с лекарственно-чувствительным (ЛЧ) ТБ лечились в течение 2 нед. одним из семи препаратов или схем, четыре из которых включали Cfz в дозе 100 мг в день. К 14-у дню интервал QTс у пациентов, получавших монотерапию Cfz, увеличился в среднем на 17 мс по сравнению с исходным уровнем. У пациентов, получавших схемы, содержащие как Cfz, так и Bdq, наблюдалось увеличение на 21 мс.

В работе B. Dannemann и соавт. [92] сообщается о 233 пациентах с лекарственно-устойчивым (ЛУ) ТБ, которые получали лечение Bdq в течение 24 нед. в сочетании с индивидуализированной фоновой схемой лечения, включая Cfz. К 24-й неделе их среднее значение QTсF увеличилось на 41,5 мс по сравнению с исходным уровнем. У пациентов, чей фоновый режим не включал Cfz, QTсF увеличивался всего на 12,9 мс.

По данным M. Tadolini и соавт. [46], 39-летняя пациентка с ШЛУ-ТБ получала лечение по схеме Dlm+Bdq+Cfz+Tzd+Mpm. Учитывая довольно внезапный рост QTс в течение недели после начала курса, эксперты TB Consilium сочли Bdq причиной кардиотоксичности. Наблюдалась гипокалиемия, которая могла увеличивать эффект удлинения интервала QT. После электролитной коррекции

удлинение интервала QT оставалось в допустимых пределах, поэтому Bdq был назначен повторно в сочетании с верапамилом 40 мг три раза в день. Однако из-за стойкого удлинения QTс и его прогрессирующего ухудшения до 508 мс на 5-й неделе Cfz отменён. После первоначального снижения менее 500 мс на 10-й неделе, QTс снова постепенно увеличивался на 12-й неделе и достигал уровней до 520 мс. До 17-й недели QTс оставался выше 500 мс. После этого QTс самопроизвольно вернулся к уровню ниже 500 мс, что предполагает роль Cfz в удлинении интервала QT.

H. Y. Yoon и соавт. [93] изучили результаты лечения 373 пациентов с МЛУ-ТБ и нетуберкулёзными микобактериозами (НТМ), получавших Cfz, Mfx, Bdq, Dlm, азитромицин и кларитромицин, медиана продолжительности лечения составила 68 нед. Были зарегистрированы 3 неблагоприятных сердечных события: фибрилляция предсердий, тампонада сердца из-за туберкулёзного перикардита и остановка сердца, не связанная с лечением. Изменения QTсF >500 мс или увеличение >60 мс наблюдались у 10 пациентов. Эти данные показывают, что клинически значимое удлинение QTсF минимально, препараты можно безопасно использовать для лечения МЛУ-ТБ или НТМ.

Учитывая синергизм пролонгации QTс Cfz с Bdq и Dlm, некоторые исследователи выразили обеспокоенность по поводу их одновременного применения, утверждая, что безопасность данных схем может быть существенно повышена с исключением Cfz [94]. Однако другие авторы утверждают, что Cfz достаточно безопасен и может использоваться в составе стандартизованных и индивидуализированных схем [95].

Профиль кардиологической безопасности новых и перепрофилированных ПТП изучен недостаточно в силу малого опыта применения, особенно в отечественной практике. Комбинации препаратов, удлиняющих интервал QTс, априори предрасположены к нежелательным явлениям, связанным не только с ЛС, но и с имеющимися факторами риска у больных. Соотношение рисков и пользы доказывает, что новые ЛС обладают большими перспективами при лечении МЛУ/ШЛУ-ТБ. К задачам последующих исследований необходимо отнести изучение влияния удлинения интервала QTс на исходы лечения у больных МЛУ/ШЛУ-ТБ и определение частоты развития угрожающих жизни нарушений ритма. Разработка новых противотуберкулёзных препаратов с удовлетворительным профилем безопасности может изменить стратегию лечения и решить проблему удлинения интервала QTс.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Автор сообщает об отсутствии конфликта интересов при подготовке данной статьи.

Литература/References

1. Chung W. S., Lin C. L., Hung C. T., Chu Y. H., Sung F. C., Kao C. H. et al. Tuberculosis increases the subsequent risk of acute coronary syndrome: a nationwide population-based cohort study. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2014; 18 (1): 79–83. doi: 10.5588/ijtld.13.0288.
2. Huaman M. A., Kryscio R. J., Fichtenbaum C. J., Henson D., Salt E., Sterling T. R. et al. Tuberculosis and risk of acute myocardial infarction: a propensity score-matched analysis. *Epidemiol Infect.* 2017; 145 (7): 1363–1367. doi: 10.1017/S0950268817000279.
3. Головина Г. А., Зафираки В. К., Космачева Е. В. Медикаментозно индуцированный синдром удлиненного интервала QT. Вестник аритмологии. 2020; 27 (3): 42–52. doi: <https://doi.org/10.35336/VA-2020-3-42-52>. [Golovina G. A., Zaphiraki V. K., Kosmacheva E. D. Drug-induced long QT syndrome. *Journal of Arrhythmology.* 2020; 27 (3): 42–52. doi: <https://doi.org/10.35336/VA-2020-3-42-52>. (in Russian)]
4. Gintant G., Sager P. T., Stockbridge N. Evolution of strategies to improve preclinical cardiac safety testing. *Nat Rev Drug Discov.* 2016; 15 (7): 457–471. doi: 10.1038/nrd.2015.34.
5. Goldenberg I., Moss A. J. Long QT Syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 2008; 51 (24): 2291–300. doi: 10.1016/j.jacc.2008.02.068.
6. Tisdale J. E. Drug-induced QT interval prolongation and torsades de pointes: Role of the pharmacist in risk assessment, prevention, and management. *Can Pharm J (Ott).* 2016; 149 (3): 139–152. doi: 10.1177/1715163516641136.
7. Быкова А. А., Чашкина М. И., Серова М. В., Симонов А. В., Копылов Ф. Ю. Распространённость удлинения интервала QT у пациентов, получающих противотуберкулёзную химиотерапию. Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2019; 12 (2): 146–151. doi: <https://doi.org/10.17116/kardio201912021146>. [Bykova A. A., Chashkina M. I., Serova M. V., Simonov A. V., Kopylov F. Yu. The incidence of QT interval prolongation in patients receiving antituberculous therapy. *Jour Card and Cardiovasc Surg.* 2019; 12 (2): 146–151. doi: <https://doi.org/10.17116/kardio201912021146>. (in Russian)]
8. Johnson J. N., Ackerman M. J. QTc: how long is too long? *Br J Sports Med.* 2009; 43 (9): 657–662. doi: 10.1136/bjsm.2008.054734.
9. Kannankeril P., Roden D. M., Darbar D. Drug-induced long QT syndrome. *Pharmacol Rev.* 2010; 62 (4): 760–781. doi: 10.1124/pr.110.003723.
10. Schwartz P. J., Woosley R. L. Predicting the unpredictable: drug-Induced QT prolongation and torsades de pointes. *J Am Coll Cardiol.* 2016; 67 (13): 1639–50. doi: 10.1016/j.jacc.2015.12.063.
11. Van Noord C., Eijgelshem M., Stricker B. H. Ch. Drug- and non-drug-associated QT interval prolongation. *Brit. J. Clin. Pharmacology*, 2010, vol. 70, № 1, pp. 16–23. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2010.03660.x
12. Guidance for Industry. International Conference on Harmonization. E14 clinical evaluation of QT/QTc interval prolongation and proarrhythmic potential for non-antiarrhythmic Drugs. U.S. Food and Drug Administration, HHS, 2005.
13. Guidance on requirements for QTc measurement in ECG monitoring when introducing new drugs and shorter regimens for the treatment of Drug-resistant Tuberculosis. USAID/Challenge TB, 2017.
14. Briasoulis A., Agarwal V., Pierce W. J. QT prolongation and torsade de pointes induced by fluoroquinolones: infrequent side effects from commonly used medications. *Cardiology.* 2011; 120: 103–110. doi: 10.1159/000334441.
15. Kang J., Wang L., Chen X.-L. et al. Interactions of a series of fluoroquinolone antibacterial drugs with the human cardiac K⁺ channel HERG. *Mol Pharmacol.* 2001; 59 (1): 122–126. doi: 10.1124/mol.59.1.122.
16. Oliaro P. L., Merle C., Mthiyane T., Bah B., Kassa F., Amukoye E., Diaye A., Perronne C., Lienhardt C., McIlleron H., Fielding K. Effects on the QT interval of a gatifloxacin-containing regimen versus standard treatment of pulmonary tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017; 61 (7): 1834–1816. doi: 10.1128/AAC.01834-16.
17. Tsikouris J. P., Peeters M. J., Cox C. D., Meyerrose G. E., Seifert C. F. Effects of three fluoroquinolones on QT analysis after standard treatment courses. *Ann Noninvasive Electrocardiol.* 2006; 11 (1): 52–6. doi: 10.1111/j.1542-474X.2006.00082.x.
18. Bloomfield D., Kost J., Ghosh K., Hreniuk D., Hickey L., Guitierrez M., Gottesdiener K., Wagner J. The effect of moxifloxacin on QTc and implications for the design of thorough QT studies. *Clin Pharmacol Ther.* 2008; 84 (4): 475–480. doi: 10.1038/clpt.2008.33.
19. Noel G. J., Goodman D. B., Chien S., Solanki B., Padmanabhan M., Natarajan J. Measuring the effects of supratherapeutic doses of levofloxacin on healthy volunteers using four methods of QT correction and periodic and continuous ECG recordings. *J Clin Pharmacol.* 2004; 44 (5): 464–73. doi: 10.1177/0091270004264643.
20. Taubel J., Naseem A., Harada T., Wang D., Arezina R., Lorch U., Camm A. J. Levofloxacin can be used effectively as a positive control in thorough QT/QTc studies in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol.* 2009; 69 (4): 391–400. doi: 10.1111/j.1365-2125.2009.03595.x.
21. Ball P. Quinolone induced QT interval prolongation: a not unexpected class effect. *J. Antimicrob Chemother.* 2000; 45 (5): 557–559. doi: 10.1093/jac/45.5.557.
22. Chen X., Cass J. D., Bradley J. A. et al. QT prolongation and proarrhythmia by moxifloxacin: concordance of preclinical models in relation to clinical outcome. *Br J Pharmacol.* 2005; 146 (6): 792–799. doi: 10.1038/sj.bjp.0706389.
23. Morganroth J., Dimarco J. P., Anzueto A., Niederman M. S., Choudhri S. CAPRIE Study Group. A randomized trial comparing the cardiac rhythm safety of moxifloxacin vs levofloxacin in elderly patients hospitalized with community-acquired pneumonia. *Chest.* 2005; 128 (5): 3398–3406. doi: 10.1378/chest.128.5.3398.
24. Technical report on the pharmacokinetics and pharmacodynamics (PK/PD) of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis. Geneva: World Health Organization, 2018.
25. Grosjean P., Urien S. Re-evaluation of moxifloxacin pharmacokinetics and their direct effect on the QT interval. *J Clin Pharmacol.* 2012; 52 (3): 329–338. doi: 10.1177/0091270011398361.
26. Yan L. K., Zhang J., Ng M. J., Dang Q. Statistical characteristics of moxifloxacin-induced QTc effect. *J Biopharm Stat.* 2010; 20 (3): 497–507. doi: 10.1080/10543400903581945.
27. Haverkamp W., Kruesmann F., Fritsch A., van Veenhuyzen D., Arvis P. Update on the cardiac safety of moxifloxacin. *Curr Drug Saf.* 2012; 7 (2): 149–163. doi: 10.2174/157488612802715735.
28. Le Berre M. A., Stass H., Choudri S. H., Arvis P. Relationship of plasma concentration and changes in the QTc interval in hospitalized patients receiving intravenous moxifloxacin for the treatment of community-acquired pneumonia (CAP). *European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 2007; 2069.
29. Badshah A., Janjua M., Younas E., Halabi A. R., Cotant J. F. Moxifloxacin-induced QT prolongation and torsades: an uncommon effect of a common drug. *Am J Med Sci.* 2009; 338 (2): 164–166. doi: 10.1097/MAJ.0b013e3181a3c2c9.
30. Khan F., Ismail M., Khan Q., Ali Z. Moxifloxacin-induced QT interval prolongation and torsades de pointes: a narrative review. *Expert Opin Drug Saf.* 2018; 17 (10): 1029–1039. doi: 10.1080/14740338.2018.1520837.
31. Stylianou A., Roger J., Stephens K. A statistical assessment of QT data following placebo and moxifloxacin dosing in thorough QT studies. *J Biopharm Stat.* 2008; 18 (3): 502–516. doi: 10.1080/10543400801995460.
32. Florian J. A., Tormoe C. W., Brundage R., Parekh A., Garnett C. E. Population pharmacokinetic and concentration-QTc models for moxifloxacin: pooled analysis of 20 thorough QT studies. *J Clin Pharmacol.* 2011; 51 (8): 1152–1162. doi: 10.1177/0091270010381498.
33. Rubinstein E., Camm J. Cardiotoxicity of fluoroquinolones. *J Antimicrob Chemother.* 2002; 49 (4): 593–596. doi: 10.1093/jac/49.4.593.
34. Taubel J., Prasad K., Rosano G., Ferber G., Wibberley H., Cole S. T., Van Langenhoven L., Fernandes S., Djumarnov D., Sugiyama A. Effects of the fluoroquinolones moxifloxacin and levofloxacin on the QT subintervals: sex differences in ventricular repolarization. *J Clin Pharmacol.* 2020; 60 (3): 400–408. doi: 10.1002/jcph.1534.
35. Cholo M. C., Mothiba M. T., Four B., Anderson R. Mechanisms of action and therapeutic efficacies of the lipophilic antimycobacterial agents clofazimine and bedaquiline. *J Antimicrob Chemother.* 2017; 72 (2): 338–353. doi: 10.1093/jac/dkw426.
36. Cox V., Tommas M., Sa A., Furin J., Quelapio M., Koura K. G., Padanilam X., Dravniec G., Piubello A. QTc and anti-tuberculosis drugs: A perfect storm or a tempest in a teacup? Review of evidence and a risk assessment. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2018. doi: 10.5588/ijtld.18.0423.
37. Dalberto P. F., de Souza E. V., Abbadi B. L., Neves C. E., Rambo R. S., Ramos A. S., Macchi F. S., Machado P., Bizarro C. V., Basso L. A. Handling the hurdles on the way to anti-tuberculosis drug development. *Front Chem.* 2020; 8: 586294. doi: 10.3389/fchem.2020.586294.
38. Report of the Guideline Development Group Meeting on the use of bedaquiline in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis (WHO/HTM/TB/2017.01). Geneva, World Health Organization, 2017.
39. Review of available evidence on the use of bedaquiline for the treatment of multidrug-resistant tuberculosis: Data analysis report Prepared for: The World Health Organization, 2017.
40. Fox G. J., Menzies D. A Review of the evidence for using bedaquiline (TMC207) to treat multi-drug resistant tuberculosis. *Infect Dis Ther.* 2013; 2 (2): 123–144. doi: 10.1007/s40121-013-0009-3.
41. Diacon A. H., Pym A., Grobusch M. P., de los Rios J. M., Gotuzzo E., Vasilyeva I. et al. Multidrug-resistant tuberculosis and culture conversion with bedaquiline. *N Engl J Med.* 2014; 371 (8): 723–732. doi: 10.1056/NEJMoa1313865.
42. Diacon A. H., Dawson R., Von Groote-Bidlingmaier E., Symons G., Venter A., Donald P. R. et al. Randomized dose-ranging study of the 14-day

- early bactericidal activity of bedaquiline (TMC207) in patients with sputum microscopy smear-positive pulmonary tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013; 57 (5): 2199–2203. doi: 10.1128/AAC.02243-12.
43. Guglielmetti L., Jaspard M., Le Dû D. et al. Long-term outcome and safety of prolonged bedaquiline treatment for multidrug-resistant tuberculosis. *Eur Respir J*. 2017; 49 (3): 1601799. doi: 10.1183/13993003.01799-2016.
 44. Guglielmetti L., Tiberi S., Burman M., Kunst H., Wejse C., Tognidze T. et al. QT prolongation and cardiac toxicity of new tuberculosis drugs in Europe: a Tuberculosis Network European Trialsgroup (TBnet) study. *Eur Respir J*. 2018; 52: 1800537. doi: 10.1183/13993003.00537-2018.
 45. Guglielmetti L., Barkane L., Le Dû D. et al. Safety and efficacy of exposure to bedaquiline-delamanid in multidrug-resistant tuberculosis: a case series from France and Latvia. *Eur Respir J*. 2018; 51 (3): 1702550. doi: 10.1183/13993003.02550-2017.
 46. Tadolini M., Lingsand R., Tiberi S. et al. First case of extensively drug-resistant tuberculosis treated with both delamanid and bedaquiline. *Eur Respir J*. 2016; 48 (3): 935–938. doi: 10.1183/13993003.00637-2016.
 47. Tadolini M., Lingsang R., Tiberi S. et al. Cardiac safety of extensively drug-resistant tuberculosis regimens including bedaquiline, delamanid and clofazimine. *Eur Respir J*. 2016; 48 (5): 1527–1529. doi: 10.1183/13993003.01552-2016.
 48. Pontali E., Sotgiu G., Tiberi S. et al. Cardiac safety of bedaquiline: a systematic and critical analysis of the evidence. *Eur Respir J*. 2017; 50 (5): 1701462. doi: 10.1183/13993003.01462-2017.
 49. Ndjeka N., Conradie E., Schnippel K. et al. Treatment of drug-resistant tuberculosis with bedaquiline in a high HIV prevalence setting: an interim cohort analysis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2015; 19 (8): 979–985. doi: 10.5588/ijtld.14.0944.
 50. Борисов С. Е., Филиппов А. В., Иванова Д. А., Иванушкина Т. Н., Литвинова Н. В., Гармаш Ю. Ю. Эффективность и безопасность основных на использовании беквильина режимов химиотерапии у больных туберкулёзом органов дыхания: непосредственные и окончательные результаты. *Туберкулёз и болезни лёгких*. 2019; 97 (5): 28–40. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-5-28-40>. [Borisov S. E., Filippov A. V., Ivanova D. A., Ivanushkina T. N., Litvinova N. V., Garmash Yu. Yu. Efficacy and safety of chemotherapy regimens with bedaquiline in patients with respiratory tuberculosis: immediate and final results. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2019; 97 (5): 28–40. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-5-28-40>. (in Russian)]
 51. Жукова Е. М., Вохминова Л. Г., Кудлай Д. А. Влияние современной химиотерапии туберкулёза с МЛУ/ШЛУ на изменение у больных интервала QT на ЭКГ. *Туберкулёз и болезни лёгких*. 2019; 97 (11): 19–22. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-11-19-22>. [Zhukova E. M., Vokhminova L. G., Kudlay D. A. The effect of the current chemotherapy of MDR/XDR tuberculosis on QT interval changes in ECG. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2019; 97 (11): 19–22. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-11-19-22>. (in Russian)]
 52. Можоккина Г. Н., Самойлова А. Г. Кардиотоксические свойства фторхинолонов и беквильина. *Туберкулёз и болезни лёгких*. 2019; 97 (4): 56–62. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-4-56-62>. [Mozhokkina G. N., Samoylova A. G. Cardiac toxicity of fluoroquinolones and bedaquiline. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2019; 97 (4): 56–62. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-4-56-62>. (in Russian)]
 53. Тихонова Л. Ю., Соколова В. В., Тарасюк И. А., Екименко А. М. и др. Опыт применения препарата беквильин у больных туберкулёзом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя в Амурской области. *Туберкулёз и болезни лёгких*. 2018; 96 (6): 45–50. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2018-96-6-45-50>. [Tikhonova L. Yu., Sokolova V. V., Tarasyuk I. A., Ekimenko A. M. et al. Experience of treatment of multiple drug resistant tuberculosis patients with bedaquiline in Amur Region. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2018; 96 (6): 45–50. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2018-96-6-45-50>. (in Russian)]
 54. Sutherland H. S., Tong A. S. T., Choi P. J., Blaser A., Conole D., Franzblau S. G., Lotlikar M. U., Cooper C. B., Upton A. M., Denny W. A., Palmer B. D. 3,5-Dialkoxypyridine analogues of bedaquiline are potent antituberculosis agents with minimal inhibition of the hERG channel. *Bioorg Med Chem*. 2019; 27 (7): 1292–1307. doi: 10.1016/j.bmc.2019.02.026.
 55. World Health Organization (WHO). Global Tuberculosis Report 2019, World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2019.
 56. World Health Organization (WHO). Global tuberculosis report 2020, World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2020.
 57. World Health Organization. The use of delamanid in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis. Interim policy guidance. WHO/HTM/TB2014.23. Geneva, World Health Organization, 2014.
 58. Lewis M. J., Sloan D. J. The role of delamanid in the treatment of drug-resistant tuberculosis. *Ther Clin Risk Management*. 2015; 11: 779–791. doi: 10.2147/TCRM.S71076.
 59. World Health Organization. The use of delamanid in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis in children and adolescents: interim policy guidance. WHO/HTM/TB/2016.14. Geneva, World Health Organization, 2016.
 60. Diacon A. H., Dawson R., Hanekom M. et al. Early bactericidal activity of delamanid (OPC-67683) in smear-positive pulmonary tuberculosis patients. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2011; 15 (7): 949–954. doi: 10.5588/ijtld.10.0616.
 61. Hewison C., Ferlazzo G., Avaliani Z. et al. Six-month response to delamanid treatment in MDR TB patients. *Emerg Infect Dis*. 2017; 23 (10): 1746–1748. doi: 10.3201/eid2310.170468.
 62. Mok J., Kang H., Hwang S. H. et al. Interim outcomes of delamanid for the treatment of MDR- and XDR-TB in South Korea. *J Antimicrob Chemother*. 2018; 73 (2): 503–508. doi: 10.1093/jac/dkx373.
 63. Gler M. T., Skripconoka V., Sanchez-Garavito E., Xiao H., Cabrera-Rivero J. L., Vargas-Vasquez D. E., Gao M., Awad M., Park S.-K., Shim T. S. Delamanid for multidrug-resistant pulmonary tuberculosis. *N Engl J Med*. 2012; 366 (23): 2151–2160. doi: 10.1056/NEJMoa1112433.
 64. Blair H. A., Scott L. J. Delamanid: a review of its use in patients with multidrug-resistant tuberculosis. *Drugs*. 2015; 75 (1): 91–100. doi: 10.1007/s40265-014-0331-4.
 65. Gupta R., Geiter L. J., Hafkin J. et al. Delamanid and QT prolongation in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2015; 19 (10): 1261–1262. doi: 10.5588/ijtld.15.0541.
 66. Hafkin J., Hittel N., Martin A. et al. Early outcomes in MDR-TB and XDR-TB patients treated with delamanid under compassionate use. *Eur Respir J*. 2017; 50 (1): 1700311. doi: 10.1183/13993003.00311-2017.
 67. Mohr E., Hughes J., Reuter A. et al. Delamanid for rifampicin-resistant tuberculosis: a retrospective study from South Africa. *Eur Respir J*. 2018; 51 (6): 1800017. doi: 10.1183/13993003.00017-2018.
 68. Ferlazzo G., Mohr E., Chinmay L. et al. Early safety and efficacy of the combination of bedaquiline and delamanid for the treatment of patients with drug-resistant tuberculosis in Armenia, India, and South Africa: a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2018; 18 (5): 536–544. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30100-2.
 69. Lee S. F. K., Laughon B. E., McHugh T. D., Lipman M. New drugs to treat difficult tuberculous and nontuberculous mycobacterial pulmonary disease. *Curr Opin Pulm Med*. 2019; 25 (3): 271–280. doi: 10.1097/MCP.0000000000000570.
 70. Migliori G. B., Pontali E., Sotgiu G. et al. Combined use of delamanid and bedaquiline to treat multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a systematic review. *Int J Mol Sci*. 2017; 18 (2): 341. doi: 10.3390/ijms18020341.
 71. Kuksa L., Barkane L., Hittel N. et al. Final treatment outcomes of multidrug- and extensively drug-resistant tuberculosis patients in Latvia receiving delamanid-containing regimens. *Eur Respir J*. 2017; 50 (5): 1701105. doi: 10.1183/13993003.01105-2017.
 72. Liu Y., Matsumoto M., Ishida H., Ohguro K., Yoshitake M., Gupta R., et al. Delamanid: from discovery to its use for pulmonary multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). *Tuberculosis*. 2018; 111: 20–30. doi: 10.1016/j.tube.2018.04.008.
 73. Sotgiu G., Pontali E., Centis R. et al. Delamanid (OPC-67683) for treatment of multi-drug-resistant tuberculosis. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2015; 13 (3): 305–315. doi: 10.1586/14787210.2015.1011127.
 74. Mallikaarjun S., Wells C., Petersen C. et al. Delamanid coadministered with antiretroviral drugs or antituberculosis drugs shows no clinically relevant drug-drug interactions in healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016; 60 (10): 5976–5985. doi: 10.1128/AAC.00509-16.
 75. Марьяндышев А. О., Лорсанов С. М., Хайдарханова З. Б., Хункарсултанов С. Б., Перхин Д. В., Свешникова О. М., Гайда А. И., Привольнев В. В. Результаты применения даламанида в лечении туберкулёза с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя в Российской Федерации. *Туберкулёз и болезни лёгких*. 2019; 97 (11): 67–68. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-11-67-68>. [Maryandyshv A. O., Lorsanov S. M., Khaydarkhanova Z. B., Khunkarsultanov S. B., Perkhin D. V., Sveshnikova O. M., Gayda A. I., Privolnev V. V. Treatment outcomes of regimens containing delamanid within therapy of multiple and extensive drug resistant tuberculosis in the Russian Federation. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2019; 97 (11): 67–68. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-11-67-68>. (in Russian)]
 76. Maryandyshv A., Pontali E., Tiberi S. et al. Bedaquiline and delamanid combination treatment of 5 patients with pulmonary extensively drug-resistant tuberculosis. *Emerg Infect Dis*. 2017; 23 (10): 1718–1721. doi: 10.3201/eid2310.170834.
 77. Наумов А. Г., Павлушин А. В. Перспективы применения таргетной химиотерапии даламанидом в схемах лечения больных туберкулёзом с множественной/широкой лекарственной устойчивостью воз-

- будителя. Успехи, возможности или неопределенность? Туберкулёз и болезни лёгких. 2018; 96 (11): 74–82. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2018-96-11-74-82>. [Naumov A. O., Pavlunin A. V. Perspectives of targeted chemotherapy with delamanid in the treatment regimens of those with multiple/extensive drug resistant tuberculosis. A success, chance or uncertainty? Tuberculosis and Lung Diseases. 2018; 96 (11): 74–82. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2018-96-11-74-82>. (in Russian)]
78. FDA Briefing Document. Pretomanid Tablet, 200 mg. Meeting of the Antimicrobial Drugs Advisory Committee (AMDAC). 2019.
 79. Baptista R., Fazakerley D. M., Beckmann M., Baillie L., Mur L. A. Untargeted metabolomics reveals a new mode of action of pretomanid (PA-824). Sci Rep. 2018; 8 (1): 5084. doi: [10.1038/s41598-018-23110-1](https://doi.org/10.1038/s41598-018-23110-1).
 80. De Miranda Silva C., Hajihosseini A., Myrick J., Nole J., Louie A., Schmidt S., Drusano G. L. Effect of moxifloxacin plus pretomanid against mycobacterium tuberculosis in log phase, acid phase, and nonreplicating-persister phase in an *in vitro* assay. Antimicrob Agents Chemother. 2018; 63 (1): 1695–1618. doi: [10.1128/AAC.01695-18](https://doi.org/10.1128/AAC.01695-18).
 81. Keam S. J. Pretomanid: first approval. Drugs. 2019; 79 (16): 1797–1803. doi: [10.1007/s40265-019-01207-9](https://doi.org/10.1007/s40265-019-01207-9).
 82. Srivastava S., Deshpande D., Magombedze G., van Zyl J., Cirrincione K., Martin K., Bendet P., Berg A., Hanna D., Romero K., Hermann D., Gumbo T. Duration of pretomanid/moxifloxacin/pyrazinamide therapy compared with standard therapy based on time-to-extinction mathematics. J Antimicrob Chemother. 2020; 75 (2): 392–399. doi: [10.1093/jac/dkz460](https://doi.org/10.1093/jac/dkz460).
 83. Tweed C. D., Dawson R., Burger D. A., Conradie A., Crook A. M., Mendel C. M., Conradie F., Diacon A. H., Ntinginya N. E., Everitt D. E., Haraka E., Li M., van Niekerk C. H., Okwera A., Rassool M. S., Reither K., Sebe M. A., Staples S., Variava E., Spigelman M. Bedaquiline, moxifloxacin, pretomanid, and pyrazinamide during the first 8 weeks of treatment of patients with drug-susceptible or drug-resistant pulmonary tuberculosis: a multicentre, open-label, partially randomised, phase 2b trial. Lancet Respir Med. 2019; 7 (12): 1048–1058. doi: [10.1016/s2213-2600\(19\)30366-2](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(19)30366-2).
 84. Wen S., Jing W., Zhang T., Zong Z., Xue Y., Shang Y., Wang F., Huang H., Chu N., Pang Y. Comparison of *in vitro* activity of the nitroimidazoles delamanid and pretomanid against multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019; 38 (7): 1293–1296. doi: [10.1007/s10096-019-03551-w](https://doi.org/10.1007/s10096-019-03551-w).
 85. Li M., Saviolakis G. A., El-Amin W., Makhene M. K., Osborn B., Nedelman J., Yang T. J., Everitt D. Phase 1 study of the effects of the tuberculosis treatment pretomanid, alone and in combination with moxifloxacin, on the QTc interval in healthy volunteers. Clin Pharmacol Drug Dev. 2021; 10 (6): 634–646. doi: [10.1002/cpdd.898](https://doi.org/10.1002/cpdd.898).
 86. Li H., Salinger D. H., Everitt D., Li M., Del Parigi A., Mendel C., Nedelman J. R. Long-term effects on QT prolongation of pretomanid alone and in combinations in patients with tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother. 2019; 63 (10): 445–19. doi: [10.1128/AAC.00445-19](https://doi.org/10.1128/AAC.00445-19).
 87. Conradie F., Diacon A. H., Ngubane N., Howell P., Everitt D., Crook A. M., Mendel C. M., Egizi E., Moreira J., Timm J., McHugh T. D., Wills G. H., Bateson A., Hunt R., Van Niekerk C., Li M., Olugbosi M., Spigelman M. Treatment of highly drug-resistant pulmonary tuberculosis. The new England journal of medicine. 2020; 382 (10): 892–902. doi: [10.1056/nejmoa1901814](https://doi.org/10.1056/nejmoa1901814).
 88. Diacon A. H., Dawson R., Von Groote-Bidlingmaier F., Symons G., Venter A., Donald P. R. et al. Bactericidal activity of pyrazinamide and clofazimine alone and in combinations with pretomanid and bedaquiline. Am J Respir Crit Care Med. 2015; 191 (8): 943–953. doi: [10.1164/rccm.201410-1801OC](https://doi.org/10.1164/rccm.201410-1801OC).
 89. Wallis R. S. Cardiac safety of extensively drug-resistant tuberculosis regimens including bedaquiline, delamanid and clofazimine. Eur Respir J. 2016; 48 (5): 1526–1527. doi: [10.1183/13993003.01207-2016](https://doi.org/10.1183/13993003.01207-2016).
 90. Anderson R., Theron A. J., Nel J. G., Durandt C., Cholo M. C., Feldman C., Tintinger G. R. Clofazimine, but not isoniazid or rifampicin, augments platelet activation *in vitro*. Front Pharmacol. 2018; 9: 1335. doi: [10.3389/fphar.2018.01335](https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01335).
 91. Choudhri S. H., Harris L., Butany J. W., Keystone J. S. Clofazimine induced cardiotoxicity — a case report. Lepr Rev. 1995; 66 (1): 63–68. doi: [10.5935/0305-7518.19950009](https://doi.org/10.5935/0305-7518.19950009).
 92. Dannemann B., Bakare N., De Marez T. et al. QTcF prolongation in a phase II trial of TMC207 plus background regimen as treatment for MDR-TB: effect of co-administration of clofazimine. ICAAC. 2012; 52: A1259.
 93. Yoon H. Y., Jo K. W., Nam G. B. et al. Clinical significance of QT-prolonging drug use in patients with MDR-TB or NTM disease. Int J Tuberc Lung Dis. 2017; 21 (9): 996–1001. doi: [10.5588/ijtld.17.0174](https://doi.org/10.5588/ijtld.17.0174).
 94. WHO consolidated guidelines on tuberculosis, module 4: treatment — drug-resistant tuberculosis treatment. World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2020.
 95. Dalcolmo M., Gayoso R., Sotgiu G., D'Ambrosio L., Rocha J. L., Borga L. et al. Effectiveness and safety of clofazimine in multidrug-resistant tuberculosis: a nationwide report from Brazil. Eur Respir J. 2017; 49 (3): 1602445. doi: [10.1183/13993003.02445-2016](https://doi.org/10.1183/13993003.02445-2016).

Информация об авторах

Кукурика Анастасия Владимировна — специалист центра социально-значимых инфекций, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3383-7723. eLIBRARY SPIN-код: 7973-8162

About the authors

Anastasiia V. Kukurika — specialist at the Center for Socially Significant Infections, National Medical Research Center of Phthisiopulmonology and Infectious Diseases, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3383-7723. eLIBRARY SPIN code: 7973-8162

Природные соединения — потенциальная основа средств профилактики и терапии гепатита С

Н. Н. БЕСЕДНОВА¹, *Т. С. ЗАПОРОЖЕЦ¹, С. П. ЕРМАКОВА², Т. А. КУЗНЕЦОВА¹,
И. В. ГАЛКИНА³, Л. Н. ФЕДЯНИНА³, Р. В. ОМЕЛЬЧЕНКО^{1,4}, М. Ю. ЩЕЛКАНОВ^{1,3,5,6}

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова Роспотребнадзора, Владивосток, Россия

² Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

³ Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

⁴ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае», Владивосток, Россия

⁵ ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток, Россия

⁶ ННЦ морской биологии им. А. В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток, Россия

Natural Compounds as Potential Basis for the Prevention and Treatment of Hepatitis C

NATALIA N. BESEDNOVA¹, *TATYANA S. ZAPOROZHETS¹, SVETLANA P. ERMAKOVA²,
TATYANA A. KUZNETSOVA¹, IRINA V. GALKINA³, LYUDMILA N. FEDYANINA³,
RUSLAN V. OMELCHENKO^{1,4}, MIKHAIL YU. SHCHELKANOV^{1,3,5,6}

¹ Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russia

² G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Vladivostok, Russia

³ Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

⁴ Center for Hygiene and Epidemiology in Primorsky Region, Vladivostok, Russia

⁵ Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Vladivostok, Russia

⁶ A. V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Vladivostok, Russia

Резюме

В статье обобщены результаты исследований действия природных соединений — полифенолов, полисахаридов и лектинов — из наземной и морской флоры на вирус гепатита С и течение ВГС-инфекции. Актуальность этой проблемы определяется широким распространением, бессимптомным течением острой формы с постепенным развитием неблагоприятных исходов, ограниченным доступом к эффективной этиотропной терапии в связи с высокой стоимостью, а также низкой осведомлённостью населения об этой болезни. Широкий спектр физиологического действия природных биологически активных веществ, обладающих противовирусной, иммуномодулирующей, противовоспалительной и антиоксидантной активностью, открывает будущие возможности их использования для создания фармакологических субстанций и лекарственных средств нового поколения с ассоциированной активностью для профилактики и адъювантной терапии гепатита С. Авторы обзора обращают внимание на трудности, с которыми связана разработка таких средств и некоторые возможные пути их преодоления.

Ключевые слова: гепатит С; профилактика; терапия; полифенолы; полисахариды; лектины

Для цитирования: Беседнова Н. Н., Запорожец Т. С., Ермакова С. П., Кузнецова Т. А., Галкина И. В., Федянина Л. Н., Омельченко Р. В., Щелканов М. Ю. Природные соединения — потенциальная основа средств профилактики и терапии гепатита С. *Антибиотики и химиотерапия*. 2023; 68 (11–12): 75–90. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-75-90>.

Abstract

The article summarizes study results of the effect of polyphenols, polysaccharides, and lectins from terrestrial and marine biota on the hepatitis C virus and the course of HCV infection. The urgency of this problem is determined by the wide spread, the asymptomatic course of the acute form of the disease with the gradual development of adverse outcomes, limited access to effective etiotropic therapy due to high cost, as well as low public awareness of this disease. A wide range of physiological effects of natural biologically active substances with antiviral, immunomodulatory, anti-inflammatory, and antioxidant activity opens up the possibility of their use for the creation of pharmacological substances and drugs of a new generation for the prevention and adjuvant therapy of hepatitis C. The authors of the review draw attention to the difficulties associated with the development of such tools and some possible ways to overcome them.

Keywords: hepatitis C; prevention; therapy; polyphenols; polysaccharides; lectins

For citation: Besednova N. N., Zaporozhets T. S., Ermakova S. P., Kuznetsova T. A., Galkina I. V., Fedyanina L. N., Omelchenko R. V., Shchelkanov M. Yu. Natural compounds as potential basis for the prevention and treatment of hepatitis C. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68 (11–12): 75–90. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-11-12-75-90>.

© Коллектив авторов, 2023

*Адрес для корреспонденции: ул. Сельская, д. 1,
НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова,
г. Владивосток, 690087, Россия. E-mail: niiem_vl@mail.ru

© Team of Authors, 2023

*Correspondence to: 1 Selskaya st., G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, 690087 Russia. E-mail: niiem_vl@mail.ru

Введение

Гепатит С, этиологически связанный с вирусом гепатита С (ВГС) (*Amarillovirales: Flaviviridae, Hepacivirus*), является тяжёлым бременем для общественного здравоохранения во всём мире [1]. Благодаря меткой метафоре академика Д. К. Львова ВГС часто называют «ласковым убийцей» [2], поскольку острый период инфекции в подавляющем большинстве случаев (80–90%) не сопровождается выраженными клиническими симптомами (такими, например, как желтуха или лихорадка), а протекает в форме снижения работоспособности, общей слабости и лёгкой интоксикации. Однако ВГС-инфекция хронизируется (70–80%) в результате интерференции вирусных белков с факторами врождённого и адаптивного иммунитета хозяина [3, 4], после чего примерно у 20–25% пациентов развивается цирроз печени или гепатоцеллюлярная карцинома, а у 70–75% — криоглобулинемический васкулит (внепечёночное проявление болезни) [4, 5].

Вследствие высокого уровня генетической вариабельности ВГС, этот вирус подразделяется на 8 генотипов, обозначаемых арабскими цифрами, и 105 генетических подтипов, при идентификации которых к номеру соответствующего генотипа добавляется строчная буква латинского алфавита (1a, 1b, 2a и т. д.). Генотипы 1 и 3 наиболее широко распространены во всём мире. В Российской Федерации на рубеже XX–XXI вв. доминировал генотип 1b [6], а в настоящее время молекулярно-генетический портрет эпидемии ВГС определяют в основном генотипы 1b (на который приходится порядка 50%) и 3 (35%) [7, 8]. Подтипы ВГС характеризуются различным риском клинических осложнений: например, наиболее благоприятный исход ассоциируется с подтипом 3a; среди пациентов с цирротической стадией хронического гепатита С (ХГС) преобладает подтип 1b; высоким уровнем репликативной активности и патогенности обладает подтип 4a [9–11].

Актуальность проблемы ВГС на современном этапе определяется широким распространением, бессимптомным течением острой формы с постепенным развитием неблагоприятных исходов, ограниченным доступом к этиотропной терапии в связи с высокой стоимостью, а также низкой осведомлённостью населения об этой болезни. По данным ВОЗ, во всём мире ХГС страдают примерно 58 млн человек, при этом ежегодно появляется около 1,5 млн новых случаев инфицирования. В 2019 г., по оценкам ВОЗ, от гепатита С умерли около 290 тыс. человек, главным образом, в результате цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [12]. О высокой значимости проблемы в Российской Федерации свидетельствует создание «Национального плана элиминации вирусных гепатитов к 2030 году», введённый в действие Указом Президента Российской Федерации

«О национальных целях развития РФ на период до 2030 года» № 474 от 21.07.2020.

Для лечения гепатита С в настоящее время чаще всего применяют сочетание пегилированного рекомбинантного IFN α и рибавирина. Однако такое лечение имеет ограниченную эффективность и значительные побочные эффекты [13]. В 2011 г. Федеральная служба по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов США одобрила применение новых ингибиторов протеазы ВГС — боцепривира и телапривира [14]. К препаратам прямого противовирусного действия относятся также даклатасвир, софосбувир и симепревир, нацеленные на вирусные белки NS5A, полимеразу NS5B или протеазу NS3/4A, соответственно. Эти препараты обеспечивают устойчивый противовирусный эффект до ~95% у большинства больных в зависимости от стадии болезни и генотипа вируса [15]. Во многих случаях такая терапия сопровождается неблагоприятными побочными эффектами (анемия, сыпь, повышение уровня билирубина, тошнота, зуд, светочувствительность, растущее число пациентов с прогрессирующим процессом в печени и пр.) [16]. Частое развитие лекарственной устойчивости возбудителя к этим средствам и высокая стоимость также ограничивают их применение. Кроме того лица, перенёвшие трансплантацию печени, достаточно быстро заболевают снова из-за инфицирования трансплантата.

Новый многообещающий подход к эффективной терапии пациентов с гепатитом С могут дать комбинации недорогих природных ингибиторов проникновения ВГС в клетку-мишень с лечением, нацеленным на различные стадии жизненного цикла этого вируса, что может предотвратить рецидивы болезни и развитие лекарственной устойчивости возбудителя.

Такими перспективными слаботоксичными или вовсе нетоксичными природными биологически активными веществами, действующими на различные стадии жизненного цикла ВГС, являются биологически активные вещества из объектов наземной и морской флоры [17]. Возможность их применения определяется рядом свойств, таких как хороший терапевтический эффект, отсутствие или минимум побочных реакций и низкая токсичность. Природные полифенолы, полисахариды и лектины помимо противовирусного эффекта оказывают антиоксидантное, противовоспалительное и иммуномодулирующее действие, в связи с чем могут быть потенциальными профилактическими и терапевтическими средствами для пациентов с гепатитом С.

Цель работы — обобщение и анализ современных литературных материалов, касающихся взаимодействия наиболее активных метаболитов наземных и морских растений с патогенетическими мишенями ВГС.

Вирусологическая характеристика возбудителя гепатита С

Подобно остальным флавивирусам, сферический (30–50 нм) оболочечный вирион ВГС содержит одноцепочечную молекулу РНК позитивной полярности длиной около 9,5 тыс. оснований, которая упакована в икосаэдрический нуклеокапсид, формируемый коровым С-белком. Трансмембранные гликопротеины I типа (с N-концевым внешним доменом) E1 и E2, формирующие поверхностные пепломеры, содержат нейтрализующие эпитопы и, будучи подвержены пресингу со стороны иммунной системы хозяина, обладают наибольшей изменчивостью [6, 18, 19].

После связывания E2 с клеточными рецепторами (CD81, SR-B1, OKLN или CLDN1) происходит клатрин-опосредованный эндоцитоз, слияние мембран вириона и эндосомы, транспорт вирионной РНК в эндоплазматический ретикулум (ЭПР), на рибосомах которого происходит трансляция единого полипротеина-предшественника длиной более 3 тыс. аминокислотных остатков, подвергающегося котрансляционному процессингу на 4 структурных (С, E1, E2 и р7, принимающий участие в почковании дочерних вирионов) и 6 неструктурных белках: NS2 (цистеиновая протеаза и кофактор сборки вириона); NS3 (сериновая протеаза, нуклеозидтрифосфатаза и РНК-геликаза); NS4A (кофактор для NS3); NS4B (формирователь мембранозной сети при репликации ВГС в ЭПР); NS5A (кофактор полимеразы NS5B и медиатор интерферон-опосредованного ответа клетки-хозяина) и NS5B (РНК-зависимая РНК-полимераза) [20–23]. Полимеразы NS5B с её кофактором NS5A и протеаза NS3 с её кофактором NS4A являются важнейшими мишенями для разработки этиотропных препаратов для лечения ГС [24, 25]. Основная функция NS3/NS4A заключается в расщеплении полипептида-предшественника, а комплекса NS5B/NS5A — в репликации генома возбудителя. РНК-геликаза NS3 модулирует репликацию РНК и её укладку в нуклеокапсид [26].

В ЭПР вновь формируемые вирионы взаимодействуют с липопротеинами низкой плотности (ЛПНП), богатыми эфирами холестерина, в результате чего формируются так называемые липовирусные частицы, помогающие ВГС избегать действия иммунного ответа организма хозяина. Кроме того, считается, что комплекс вирион-ЛПНП играет важную роль в проникновении ВГС в гепатоциты [27–29].

Природный резервуар ВГС до настоящего времени неизвестен. Имеются данные о том, что белок E2 ВГС обладает большей специфичностью к CD81 эдипова тамарина (*Saguinus oedipus*) по сравнению с человеческим CD81, однако продуктивная инфекция в клетках этого животного

(включая гепатоциты) не развивается [30]. Вместе с тем, рекордный уровень генетической гетерогенности ВГС в субсахарской Африке, наличие уникальных генотипов и результаты филогенетического анализа указывают на то, что 200–300 лет назад ВГС начал активное распространение в человеческой популяции именно в этом регионе [31].

Согласно современным представлениям, ВГС вызывает заболевание только у человека, основными клетками-мишенями в организме которого являются гепатоциты [5, 6]. Долгое время единственной экспериментальной моделью оставались шимпанзе (*Pan sp.*), однако эти животные имеют особо охраняемый статус, высокую стоимость, а постоянно возрастающие этические ограничения делают эту модель малоприменимой, по крайней мере, для широкомасштабных исследований [32]. В начале XXI века была предложена модель химерных гуманизированных мышей, имеющих человеческие гепатоциты, однако технология их получения достаточно сложна, а их содержание ограничивается особо чистыми вивариями, не имеющими массового распространения [33].

Известны несколько моделей для пассирования ВГС *in vitro*. Так, репликацию ВГС поддерживает клеточная линия гепатокарциномы человека Huh-7 и её производные. Однако, как и для любой злокачественно-трансформированной клеточной линии, фенотип этих клеток значительно отличается от нативных гепатоцитов, и результаты экспериментов с использованием Huh-7 не всегда могут быть интерпретированы однозначно. Гораздо более адекватной моделью являются первичные клеточные культуры — гепатоциты человека, в частности — получаемые из человеческого плода. Эту модель достаточно часто используют для тестирования лекарственных препаратов. Кроме того, результативной моделью служит анализ высокоточных срезов печени взрослого человека, взятых у инфицированных или неинфицированных лиц. Эта модель позволяет поддерживать трёхмерную структуру печени и анализировать экспрессию генов и белков, а также тестировать различные лекарства [32].

В качестве перспективной модели для изучения полного цикла репликации ВГС *in vitro* рассматривается штамм ВГС/JFH1 генотипа 2a, изолированный от пациента с фульминантной формой ГС, в отличие от прочих штаммов ВГС этот вариант вируса способен реплицироваться в клеточных линиях (в частности, Huh-7) без накопления адаптивных мутаций [34].

Взаимодействие ВГС с природными БАВ

Полифенолы наземных растений. Полифенолы — высокогидрофильные вторичные метабо-

литы наземных и морских растений, составляющие группу из более чем 8000 структурных вариантов. Общей структурной особенностью полифенолов и фенольных соединений является наличие одной или нескольких гидроксильных групп, присоединённых к бензольному кольцу [35]. В зависимости от количества колец и элементов, соединяющих эти кольца, они классифицируются как флавоноиды, фенольные кислоты, стильбены или лигнаны [36]. Характеристика растительных полифенолов затруднена из-за неоднородности этих соединений как по молекулярной массе, так и по уровню изомеризации [37]. Все ещё мало сведений об эндогенном переваривании этих соединений и их катаболизме. Известно, что около 90–95% пищевых полифенолов попадают в кишечник в неизменённом виде, где в результате метаболизма и биотрансформации образуются низкомолекулярные соединения с меньшей химической гетерогенностью, чем в исходном соединении [38, 39].

Полифенолы обладают очень сильными антиоксидантными свойствами, поскольку фенольные кольца действуют как электронные ловушки для свободных радикалов. Большинство гликопротеинов вирусной природы содержат N-связанные гликаны, и ингибиторы α -глюкозидазы были предложены в качестве полезных противовирусных средств широкого спектра действия, основанных на их активности против оболочечных вирусов. Полифенолы модулируют функции иммунной системы, уменьшают воспаление, ингибируют провоспалительные цитокины, в частности, подавляют цитокиновый шторм, модулируют клеточный иммунитет, действуют как поглотители свободных радикалов, противодиабетические, противоопухолевые, радиопротекторные средства [40].

В последние годы были проведены интенсивные исследования противовирусной активности полифенольных соединений из наземных растений. Оболочечные вирусы оказались очень чувствительными к действию полифенолов.

Наиболее известными полифенолами наземных растений, исследованными в качестве антивирусного средства против ВГС, являются катехины зелёного чая (GTCs), представленные в аптечной сети в виде разнообразных биологически активных добавок к пище. Наиболее распространённым соединением из них является эпигаллокатехин-3-галлат (EGCG), флавоноид, обладающий антиоксидантными, антиинфекционными, противоопухолевыми и противовоспалительными свойствами [41]. Он составляет половину полифенольной фракции зелёного чая. К другим катехинам зелёного чая относятся EGC, ECG и EC. Показано, что ВГС способен взаимодействовать с гепарансульфатами клеточной поверхности [42], поэтому молекулы-миметики,

препятствующие этим взаимодействиям, оказываются активными против возбудителя, например, (–)эпигаллокатехин 3-галлат (EGCG), флавоноид зелёного чая или теафлавины чёрного чая, которые конкурируют с вирионами ВГС за связывание с гепарансульфатом [15, 42].

В клинических исследованиях со здоровыми людьми-добровольцами было показано, что EGCG совершенно безопасен и хорошо переносится при пероральных дозах 800 мг EGCG в день в течение 4 нед., что составляет примерно 8–16 чашек зелёного чая один раз в день [43].

EGCG ингибирует инфекционность вируса гепатита С. Так, в исследованиях С. Chen и соавт. [44] был использован химерный ВГС JFH1-GFP с EC₅₀, равной 17,9 мкм. EGCG подавлял проникновение вируса в клетку и репликацию вирусной РНК. В присутствии 50 и 25 мкм EGCG вирус гепатита С элиминировался из клеточной культуры после 2 и 5 пассажей, соответственно. В концентрации 50 мкм EGCG подавлял инфекционность ВГС на начальной стадии жизненного цикла вируса более чем на 90%, а также ингибировал передачу вируса от клетки к клетке. Последнее свойство имеет большое значение при трансплантации печени пациентам с хроническим гепатитом С, поскольку очень часто эта операция не приносит успеха именно из-за инфицирования трансплантата.

Предварительная инкубация клеток-мишеней с EGCG не оказывает влияния на ВГС-инфекцию, а также не изменяет уровни экспрессии клеточных факторов входа — CLDN1, OCLN, SR-B1 [45].

Используя радиоактивно меченый ВГС S. Ciesek и соавт. [45] показали, что EGCG блокирует прикрепление к клеткам всех генотипов вируса, т. е. полифенол нацелен на NS3/4A-независимую начальную стадию цикла репликации вируса и ингибирует распространение возбудителя от клетки к клетке. Более поздние этапы проникновения (взаимодействие с вирусными рецепторами, эндоцитоз или слияние мембран), при этом, по-видимому, не затрагиваются, т. е. полифенол действует непосредственно на вирусную частицу и ингибирует связывание ВГС с поверхностью клетки-хозяина. На другие стадии развития вируса EGCG не влиял [46]. Для рекомбинантного ВГС (GFH1-Luc) ингибирующая концентрация EGCG IC₅₀ составляет 5 мкм. Соединение можно сочетать с другими противовирусными препаратами, а также рекомендовать его для профилактики инфекции, особенно при трансплантации печени хронически инфицированным пациентам с ВГС.

EGCG усиливает регуляцию экспрессии miR-194 (miRNAs — небольшие некодирующие РНК, регулирующие экспрессию генов путём взаимодействия с 3'-UTR множественных мРНК) с последующим снижением экспрессии CD81, который

взаимодействует с белком 2 оболочки ВГС, создавая условия для более эффективного эндоцитоза вируса [47]. Уровень экспрессии miR-194 коррелировал с экспрессией CD81 в биоптатах печени пациентов с ВГС, что позволяет предположить действие miR-194 в качестве «стража ворот» у гепатоцитов, препятствующее проникновению ВГС посредством нацеливания на экспрессию CD81, а EGCG способен усиливать этот ингибирующий эффект.

Изомеры эпикатехина зелёного чая — (+) эпикатехин и (–) эпикатехин — ингибируют репликацию ВГС путём значительного снижения уровня Sox-2. В клетках гепатомы Huh-7 они оказывали заметное противовоспалительное действие, ингибируя экспрессию TNF α , IL-1 β и iNOS [48]. Оба изомера аддитивно ингибировали репликацию ВГС в комбинации либо с IFN α , либо с ингибиторами ферментов вируса (2-С-метилцитидином или теллапривиром). Полученные результаты позволили авторам рекомендовать это соединение в качестве кандидата для создания профилактического или лечебного препарата при гепатите С.

Теафлавины чёрного чая — теафлавин (TF1), теафлавин-3-моногаллат (TF2) и теафлавин 3-3-дигаллат (TF3) — как и катехины зелёного чая, оказывают ингибирующее дозозависимое действие на все генотипы ВГС, воздействуя непосредственно на вирус до его входа в клетку и ингибируя его распространение от клетки к клетке. TF3 оказывал также аддитивное действие [15]. Интересно отметить, что теафлавины и EGCG инактивируют одни и те же вирусы и, по-видимому, механизм действия теафлавинов аналогичен или близок таковому EGCG.

Исследовано также действие на ВГС других полифенолов, в частности, дельфинидина — флавоноида, первичного растительного пигмента, который придаёт синий оттенок цветам родов *Viola* и *Delphinium* [49]. Действие этого соединения против ВГС превосходило таковое для EGCG [50]. IC₅₀ дельфинидина составляла 3,7 $\pm$ 0,8 мкМ, что соответствует примерно одной трети от IC₅₀ EGCG, рассчитанной в тех же условиях (10,6 $\pm$ 2,9 мкМ). Как и полифенолы чая, дельфинидин проявлял активность против ВГС только на стадии проникновения.

Дельфинидин ингибирует проникновение ВГС в первичные гепатоциты человека, не проявляет явной цитотоксичности, эффективен в комбинации с интерфероном и боцепревиром в клеточной культуре. Ни агрегации, ни разрушения вирусных частиц соединение не вызвало. Однако наблюдения с помощью криотрансмиссионной электронной микроскопии псевдочастиц ВГС, обработанных дельфинидином или EGCG, показали вздутие частиц, которого не было в контрольных

препаратах. Таким образом, полифенольные природные соединения TGCG, TF3 и дельфинидин ингибируют проникновение ВГС с помощью нового механизма — изменения характера поверхности вирусной частицы, что нарушает процесс её прикрепления к клетке [51]. Эффект был более выражен при использовании дельфинидина.

Эффективным ингибитором ВГС является кверцетин — флавоноид, частый компонент рациона человека (содержится в яблоках, ягодах, зелёном чае и пр.). Входит в БАДы к пище, представленные в аптечной сети, используется в народной медицине. В клетках Huh-7.5. и в первичных гепатоцитах человека, инфицированных ВГС, кверцетин снижал репликацию вирусного генома и специфическую инфекционность вновь образующихся вирусных частиц (на 85 и 92%, соответственно). Механизмы действия кверцетина (прямое и не прямое) очень интересны, поскольку включают несколько направлений, каждое из которых имеет свои мишени воздействия. По-видимому, полифенол оказывает прямое действие на вирус, т. к. инфекционность последнего снижалась при прямом контакте его с вирусом на 65%. Кроме того, кверцетин ингибирует активность DGAT1 [52] — фермента, синтезирующего триглицериды и участвующего в стадии сборки жизненного цикла ВГС. DGAT1 взаимодействует с ядром вирусного нуклеокапсида и необходим для транспортировки ядра в липидные капли. Ингибирование кверцетином активности DGAT1 серьёзно ухудшает продукцию вирусных частиц, и свидетельствует о том, что этот фермент может быть мишенью для противовирусной терапии.

Кверцетин способен косвенно ингибировать репликацию ВГС путём подавления белков теплового шока (HSP) хозяина. Этот эффект может быть связан с комплексами, которые HSP образуют с неструктурным белком NS5A. Кверцетин может также напрямую ингибировать вирусную протеазу NS3 [53, 54].

Большой интерес представляет клиническое исследование, касающееся возможности применения больших доз кверцетина для снижения вирусной нагрузки и/или уменьшения повреждения печени [55]. Кверцетин был безопасен в дозе до 5 г в день для всех участников исследования. Кроме того, у 8 пациентов наблюдалось снижение вирусной нагрузки на 0,41 log и отсутствие изменений в уровне АЛТ и АСТ. Поскольку пациенты хорошо переносили высокие дозы кверцетина, авторы рекомендуют применять его для предотвращения рецидива болезни, а также для профилактики у контактировавших с больными гепатитом С.

Ещё одно полифенольное соединение из наземной флоры — куркумин, ранее называвшийся индийским шафраном, также является перспективным средством против вирусного гепатита С.

Получают его из высушенных корней куркумы *Curcuma longa*, многолетнего растения, включённого в Европейскую фармакопею. На протяжении нескольких тысячелетий это соединение употребляется в качестве ингредиента для лекарственных средств в восточной и, прежде всего, в китайской медицине. Куркумин обладает способностью модулировать разные внутриклеточные сигнальные пути, оказывает антиоксидантное, иммуномодулирующее, нейро- и гепатопротекторное и противовирусное действие [56]. А. С. С. Colpitts и соавт. [57] исследовали антивирусную активность этого соединения и его производных. В экспериментах были использованы псевдочастицы ВГС (HCVpp), полученные из клеточной культуры ВГС (HCVcc), а также клеточная линия гепатомы человека и первичные гепатоциты человека. Воздействие куркумина не влияло на репликацию РНК ВГС или его высвобождение из клеток. Однако совместная инкубация ВГС с куркумином значительно снижала проникновение в клетки всех генотипов возбудителя [58]. Уровни экспрессии рецепторов ВГС не менялись, а предварительная обработка вируса куркумином снижала инфекционность вируса без лизиса вирусных частиц. Полифенол влиял на вязкость мембран вируса, что приводило к нарушению процесса связывания вирусных частиц с поверхностью клеток. Как и полифенол из зелёного чая, куркумин ингибировал передачу вируса от клетки к клетке и был эффективен в сочетании с другими противовирусными средствами.

Однако положительному эффекту куркумина препятствует его низкая растворимость, проблемы с биодоступностью и низкий уровень поглощения клетками. Этому недостатку удаётся избежать за счёт включения куркумина в мицеллы, липосомы и наночастицы, что создаёт возможность для замедленного высвобождения соединения в поражённые клетки, улучшает его биодоступность, предотвращает деградацию или метаболизм и увеличивает терапевтический потенциал [59]. Применяют также биоусилители, такие как алкалоид пиперин, который ингибирует процесс глюкуронизации куркумина в кишечнике и печени, способствуя повышению его биодоступности в несколько раз [60].

С. А. Loutfy и соавт. [25] конъюгировали хитозан и куркумин в виде нанокompозита и оценивали его действие на процессы проникновения и репликации ВГС-4 в клетках гепатобластомы и проводили исследования *in silico*. Анализ *in silico* показал хорошие результаты: увеличение аффинности нанокompозита к ВГС-4а NS5В по сравнению с одним куркумином, что продемонстрировало его потенциальные возможности в воздействии на репликацию вируса. *In vitro* эти исследования показали, что нанокompозит инги-

бирует проникновение ВГС-4а на 94,5%, т. е. соединение блокирует проникновение вируса в клетки гепатомы, не влияя на сборку вируса или высвобождение вирионов. Авторы подтвердили данные других авторов, что куркумин воздействует на вязкость мембраны вируса, а не разрушает его. Что касается высвобождения куркумина, то было показано, что 50% куркумина высвобождалось в течение первых 11 мин, 34% — через 120 мин. Таким образом, общее высвобождение куркумина (84%) было получено через 2 ч. Далее наблюдалось относительно постоянное высвобождение куркумина в течение 4 ч.

Н. Yusuf и соавт. [61] предложили новую липосомальную форму куркумина. Это соединение, инкапсулированное в липосомы, продлевает контакт со слизистой благодаря адгезивным свойствам, что увеличивает всасываемость препарата и его биодоступность при сублингвальном использовании. Это новая альтернативная лекарственная форма для повышения терапевтической эффективности куркумина против инфекции, вызванной ВГС.

Анализ докинга для прогнозирования взаимодействия куркумина с ВГС позволил установить сильное взаимодействие между куркумином и рецептором 4GAG, белком, участвующим в начальной стадии инфекции ВГС. Кроме того, сообщалось также о хорошем взаимодействии куркумина с 4EAW, NS5В вируса гепатита С, играющим важную роль в репликации возбудителя [62].

Компоненты куркумина с $\alpha\beta$ -ненасыщенными кетонowymi группами снижают вязкость и устойчивость липидной мембраны вируса гепатита С, что приводит к ингибированию прикрепления вируса и слияния с клетками. Соединение ингибирует проникновение всех генотипов ВГС в клетки в зависимости от дозы с IC_{50} около $8,46 \pm 1,27$ мкм [57, 62]. Куркумин может ингибировать репликацию РНК и экспрессию NS5А и NS5В ВГС в инфицированных клеточных линиях посредством подавления сигнальных путей PI3K-Akt и Akt-SREBP-1, а также индукции гемоксигеназы [63].

Другие растительные полифенолы проявляют своё ингибирующее действие по отношению к ВГС, используя иные механизмы. Так, силибинин А, силибинин В и их растворимые формы дигидрогенсукцинат и легалон (производное силибинина, коммерчески доступный препарат для внутривенного введения) — компоненты *Silybum marianum* ингибировали активность РНК-зависимой РНК-полимеразы ВГС с IC_{50} 75–100 мкм. Силибинин А и силибинин В ингибировали также репликацию HCV генотипа 1b и репликацию штамма JFH1 HCV генотипа 2a в культуре клеток. Силибинин оказывал противовирусное действие против ВГС, блокируя клатрин-опосредованный эндоци-

тоз [64]. О влиянии силибинина на белок NS4B ВГС и, следовательно, на морфогенез сайтов репликации ВГС, что препятствует заражению гепатитом С, сообщают К. Esser-Nobis и соавт. [65]. Внутривенная монотерапия легалоном (469, 265 или 61,5 мг/кг) в течение 14 дней химерных мышей uPA-SCID с гуманизированной печенью, заражённых гепатитом С, сопровождалась двухфазным снижением уровня вирусемии. Этот эффект не был обусловлен снижением количества гепатоцитов человека. Введение легалона индуцировало экспрессию противовоспалительных и антипролиферативных генов, ингибировало экспрессию IL-8, никотамидин N-метилтрансферазы и остеопонтина, способствующих репликации ВГС [66]. Легалон предлагают рассматривать как эталонный препарат силимарина [67].

Таким образом, силимарин и его производные являются надёжными средствами против гепатита С [68]. Описанные в литературе разные механизмы противовирусного действия этих соединений могут объясняться методологическими недостатками исследований: разными условиями экспериментов, методами экстракции, различными модельными системами, гетерогенностью популяций больных, отсутствием стандартизованных препаратов и пр. Даже пероральный и внутривенный способы введения силимарина оказывают различное воздействие на жизненный цикл ВГС [69].

Полифенолы конкурируют с гепарансульфатом или фрагментами сиаловой кислоты за связывание вируса, что является доказательством того, что на основе описанных полифенолов могут со временем быть созданы не только БАДы к пище и продукты функционального питания, но и лекарственные препараты с оригинальным механизмом действия и противовирусной активностью широкого спектра.

Общим механизмом для многих РНК-вирусов, в том числе и ВГС, которые реплицируются в цитоплазме, является индукция окислительного стресса. Поскольку антиоксиданты, в том числе, полифенолы, защищают клетки от повреждений, вызванных активными формами кислорода (АФК), они представляют собой привлекательные молекулы для борьбы с инфекциями. Вопрос о полезности антиоксидантов при гепатите С пока ещё не решён окончательно, за исключением тех, положительное действие которых доказано, и они используются в клинике. Так, высокую оценку роли силимарина (силибинина) как антиоксиданта в патогенезе гепатита С дали S. Ahmed и соавт. [70]. Этот полифенол ингибирует образование и связывает некоторые виды радикалов, препятствует развитию перекисного окисления липидов мембран и увеличивает внутриклеточное содержание поглотителей [71].

В целом большинство исследователей считают, что антиоксиданты природного происхождения могут значительно улучшать состояние пациентов с гепатитом С, уменьшая окислительный и нитрозирующий стресс при повреждении печени, но обращают внимание на необходимость тестирования антиоксидантов до начала их применения у больных гепатитом С [71].

Полифенолы морских водорослей. Морские водоросли, как и наземные растения, являются продуцентами активных метаболитов — противовирусных соединений — полисахаридов, полифенолов, лектинов, пептидов и пр. [72], представляющих собой богатейший альтернативный ресурс синтетическим лекарственным средствам, поскольку эти соединения в большинстве случаев обладают низкой токсичностью, а некоторые нетоксичны вовсе в дозах, которые обладают широким спектром противовирусной активности и минимальными побочными явлениями. Кроме того, из-за химического разнообразия молекул и механизмов их действия они инактивируют вирусы и блокируют их действие, не вызывая резистентности или селекции этих микроорганизмов [73].

Подобно таннинам наземных растений в состав фенольных соединений из морских водорослей входят гидроксильные группы (–ОН), они преимущественно растворимы в воде, прочно прикреплены к белкам, полисахаридам и другим полимерам, способны хелатировать двухвалентные металлы, имеют большой диапазон масс (от 1 до 650 кДа и выше) и обладают широким спектром биологической активности, в том числе выраженными противовирусными свойствами [74]. Макро- и микроводоросли, а также цианобактерии накапливают полифенолы, в частности, флороглюцинол и его полимеры — флоротаннины, представляющие собой гетерогенную группу уникальных полифенольных соединений, различающихся по структуре и степени полимеризации и содержащихся только в бурых морских водорослях (до 25% от сухого веса) [75, 76]. Эти соединения состоят из мономерных звеньев флороглюцинола (1,3,5-гидроксibenзола), из них получено более 700 природных вариаций, используемых в различных областях. Флоротаннины, состоят из 8 фенольных колец, и поэтому они являются более сильными антиоксидантами, чем ПФ наземных растений, поскольку существует положительная корреляция между антиоксидантной активностью полифенолов и количеством гидроксильных групп, присутствующих в структуре соединения [77].

Бромфенолы, фенольные кислоты и флавоноиды составляют наиболее значительную долю фенольных соединений, обнаруженных в красных и зелёных морских водорослях [78]. В последние годы были проведены интенсивные исследования противовирусной активности полифенольных со-

единений из макро- и микроводорослей. Сообщается, что вирусы, особенно оболочечные, очень чувствительны к полифенолам, которые связываются с белками вирусной оболочки, предотвращая взаимодействие патогена с клеткой-хозяином [78].

В литературе пока ещё мало работ, касающихся действия полифенолов морских водорослей против ВГС, однако достаточно много сведений относительно воздействия на другие оболочечные вирусы. Опираясь на эти материалы, а также на результаты имеющихся научных исследований, касающихся взаимодействия этих соединений с ВГС, можно полагать, что в дальнейшем будет обращено внимание и на этот аспект изучения полифенолов морских водорослей.

К.-J. Chen и соавт. [79] исследовали экстракт из водоросли *Gracillaria tenuistipitata*, содержащий полифенол ($98,94 \pm 2,43$ мкг), флавоноид ($22,59 \pm 1,08$ мкг) и аскорбиновую кислоту ($1,59 \pm 0,8$ мкг) в 1 мг сухого экстракта и определили его действие на ВГС. Экстракт ингибировал репликацию РНК ВГС в зависимости от концентрации и с EC_{50} $300 \pm 0,3$ мкг/мл. Даже при высоких концентрациях экстракта не было заметной цитотоксичности. В комбинации с интерфероном экстракт оказывал синергическое действие на ВГС, что свидетельствовало о возможности использования его в дальнейшем для комбинированной терапии ВГС-инфекции.

ВГС индуцировал значительную активацию NF- κ B и COX-2. Обработка клеток экстрактом подавляла продукцию COX-2, опосредованную сигнальным путём NF- κ B на транскрипционном уровне. Авторы пришли к выводу, что ингибирующий эффект экстракта на многочисленные провоспалительные геновые продукты, индуцированные ВГС, частично опосредован сигнальным путём NF- κ B. Но в связи с тем, что экстракт содержал не только полифенолы, но и другие активные компоненты, нельзя исключить участие в процессе и иных сигнальных путей. Таким образом, подобные экстракты из грациллирии могут быть полезны для профилактики и лечения хронического вирусного гепатита С путём одновременного ингибирования репликации вируса, воспаления и канцерогенеза.

Полифенолы из морских водорослей являются не только противовирусными, но и сильными противовоспалительными соединениями. Например, 8,8-диекол из морской водоросли *Ectocarpus* ингибировал путём подавления экспрессии iNOS выработку оксида азота, ключевого медиатора воспаления, и простагландина E2 (PGE2) макрофагами, стимулированными липополисахаридом. Флоротаннин снижал выработку и экспрессию мРНК IL-6. Воздействие этого полифенола на макрофаги снижало трансактивацию NF- κ B и ядерную транслокацию субъединицы

NF- κ B p65 и подавляло индуцируемую липополисахаридами продукцию внутриклеточных АФК в макрофагах. Таким образом, противовоспалительное действие морских полифенолов связано с подавлением NO, PGE2 и IL-6 посредством негативной регуляции пути NF- κ B и продукции АФК в макрофагах RAW264.7.

H. Evans и соавт. [80] запатентовали композицию флоротаннинов с молекулярной массой (М. м.) примерно 1000–3000 г/моль для лечения и профилактики вирусных инфекций, обусловленных как безоболочечными, так и оболочечными вирусами, в том числе ВГС.

Полифенолы содержатся в высоких концентрациях в наземных и морских растениях, в связи с чем являются очень привлекательными соединениями в качестве основы для создания средств для профилактики вирусного гепатита, а также для использования в качестве средств сопровождения базисной терапии при остром и хроническом гепатите С. Особую ценность этим соединениям придаёт их мультивалентность (противовирусная, противовоспалительная, антиоксидантная и иммуномодулирующая активности). Полифенолы способны вмешиваться в разные этапы жизненного цикла ВГС, т. е. являются многоцелевыми препаратами. Большое значение имеет то, что полифенолы оказывают прямое действие на ВГС, блокируют первую стадию жизненного цикла вируса, предотвращают передачу возбудителя от клетки к клетке и не формируют устойчивости ВГС.

В настоящее время разрабатываются инновационные подходы к разработке противовирусных препаратов на основе полифенолов, включающие синтез этих соединений на основе компонентов природного происхождения и сочетания синтетических и натуральных компонентов [40]. Однако учёным предстоит пройти ещё долгий путь, пока полифенолы из водорослей найдут своё постоянное применение в качестве лекарственных средств у человека, поскольку предстоит столкнуться со многими трудностями. Важно решить вопрос с безопасными оптимальными дозировками, выбрать лучший способ введения в организм, так как этот фактор играет роль в обеспечении абсорбции и биодоступности, которую можно улучшить путём модификации путей доставки или введения. S. Li и соавт. [81] обращают внимание на то, что некоторые полифенолы могут иметь нежелательные побочные эффекты, например, генотоксичность или нарушение биосинтеза гормонов щитовидной железы. Кроме того, следует учитывать риски их применения при заболеваниях печени. Необходимо строго установить дозы, при которых можно избежать побочных эффектов. Очень важно проведение серьёзных клинических испытаний для оценки точного воздей-

ствия различных полифенолов на пациентов с гепатитом С, особенно таких соединений, которые проявили значительный положительный эффект в экспериментах на животных.

Полисахариды морских водорослей. К настоящему времени в экспериментах *in vivo* и *in vitro*, а также в немногочисленных клинических работах доказаны противовирусные, противовоспалительные, иммуномодулирующие, антиоксидантные, гастро- и гепатопротекторные эффекты полисахаридов из различных видов водорослей, которые применяются в медицинских целях в качестве БАД к пище благодаря биосовместимости, слабой токсичности (чаще токсичность отсутствует вообще), а также способности действовать одновременно на многие патогенетические мишени при соматических и инфекционных заболеваниях [74, 82, 83].

Морские водоросли содержат как сульфатированные полисахариды (фукоиданы, каррагинаны, ульваны), так и полисахариды, в которых сульфатные группы отсутствуют (ламинараны). Биологическая активность полисахаридов морских макрофитов зависит от таких факторов, как молекулярная масса, степень сульфатирования, плотность заряда, структурные и конформационные характеристики [84, 85]. При этом одной из важнейших физико-химических характеристик макрофитных полисахаридов является их растворимость в воде [86]. Структуру полисахаридов можно модифицировать для получения синтетических производных с желаемыми характеристиками, что может значительно повышать их биологическую активность [83].

Известно, что в организме человека наиболее распространёнными гетерополисахаридами являются гликозаминогликаны — отрицательно заряженные длинные неразветвлённые полимерные полисахариды (ПС), состоящие из повторяющихся единиц — дисахаридов [4]. Связывание гликозаминов с различными лигандами приводит к посттрансляционным модификациям, обеспечивающим миграцию клеток, их пролиферацию, дифференцировку и т. д. Среди гликозаминогликанов особенно интересен класс гепарин/гепарансульфатов, присутствующих в базальных мембранах, во внеклеточном матриксе, а также на поверхности клеток в составе мембран, которые способны специфически взаимодействовать с макромолекулами внеклеточного матрикса (фибронектин, ламинин), ферментами и обширным классом гепаринсвязывающих молекул (факторы роста, хемокины). Миметики гликозаминогликанов, в том числе и гепарин/гепарансульфаты, связываясь с другими молекулами, обеспечивают широкий спектр биологических эффектов и модулируют влияние многих сигнальных молекул на клетку. Природными миметиками гепарансульфа-

тов являются СПС морских бурых, красных и зелёных макро- и микроводорослей, способные имитировать действие эндогенных факторов и регулировать функции систем макроорганизма через ключевые рецепторы клеток и ферментов. Благодаря этому СПС обладают способностью связываться с различными рецепторами на поверхности клетки хозяина и вызывать многочисленные эффекты [74, 87].

Во многих исследованиях сообщается, что природные и модифицированные полисахариды могут подавлять различные вирусные инфекции [88]. Противовирусные механизмы морских полисахаридов включают две основные стратегии: а) ингибирование активности вируса и б) повышение показателей иммунного ответа хозяина на внедрение возбудителя. Полисахариды могут ингибировать вирусную инфекцию на любой из 6 стадий развития вируса [89]. В связи с этим использование полисахаридов водорослей при инфекции, вызванной ВГС, может быть перспективным. Общим свойством полисахаридов является способность ингибировать вирусную инфекцию путём воздействия на адсорбцию вирусов, связывая их, или блокируя рецепторы на клетках, что мешает прикреплению возбудителя. И то, и другое связано с взаимодействием полисахаридов с положительными зарядами оболочки вируса или поверхности клетки. В сульфатированных полисахаридах отрицательно заряженные сульфатные группы могут усиливать противовирусную активность. При этом степень сульфатирования коррелирует с антивирусной активностью.

Перспективным для дальнейшей разработки в качестве лекарственного препарата для терапии гепатита С является сульфатированный полисахарид бурых водорослей фукоидан. В настоящее время он производится многими фармацевтическими компаниями в качестве биологически активной добавки к пище. В эксперименте на культуре клеток Huh-7, инфицированных ВГС, было установлено, что фукоидан, полученный из водоросли *Cladosiphon okamuranus Tokita*, добавленный в культуральную среду, дозозависимо ингибирует внутриклеточную репликацию генома ВГС *in vitro*. [90]. Эти же авторы в открытом неконтролируемом исследовании наблюдали за состоянием 15 пациентов с хроническим гепатитом С и циррозом печени, связанном с ВГС, и гепатоцеллюлярной карциномой, которые в течение 12 мес. получали фукоидан в дозе 0,83 г/сут. Через 8–10 мес. лечения уровни РНК ВГС значительно снизились по сравнению с исходными показателями (исходный показатель — 380 МЕ/мл, через 10 мес. — 5 МЕ/мл). Снизились также показатели АЛТ в сыворотке крови. Однако эффект был временным. Через 12 мес. снова отмечался подъём этих показателей. Значительного клинического

улучшения не было, но не было и прогрессирования процесса, а также других нежелательных явлений. В связи с этим авторы рекомендуют включать фукоидан в протокол лечения таких больных, так как он безопасен, но полезен для уменьшения вирусной нагрузки. Окончательные выводы относительно эффективности фукоидана у больных гепатитом С можно будет сделать при подборе более значительного числа пациентов и применения более корректной системы включения и исключения пациентов.

Н. В. Филонова [91] на клиническом материале (57 пациентов с хроническим гепатитом С) установила, что применение полисахаридов из бурых водорослей (БАД к пище — фуколам, состоящая из фукоидана и альгината) в комплексе с базисным лечением у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С оказывает иммуномодулирующее действие на показатели цитокинового статуса, гуморальные и клеточные факторы адаптивного и врождённого иммунитета, способствуя коррекции метаболической иммуносупрессии. Фуколам снижает воспалительный процесс в печени: нормализует биохимические и морфометрические показатели печени, а также восстанавливает баланс системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты.

Уровень антивирусной активности полисахаридов зависит от вида водоросли. Так, исследование антивирусной активности СПС из 4 видов морских водорослей показало дозозависимое ингибирование экспрессии вирусных белков и РНК ВГС как в клетках, так и в культуральной жидкости. Наиболее высокую ингибирующую активность, не зависящую от генотипа вируса, показал СПС из водоросли *Laurencia obtusa* (82,36%), наименьшую (69,85%) — СПС из водоросли *Pterocladia capillacea* [92].

Сульфатированные полисахариды водорослей могут использоваться в качестве противовирусных препаратов по отдельности или в комбинации с клинически одобренными противовирусными лекарствами, которые могут улучшать состояние пациентов, в том числе, и с гепатитом С. В условиях отсутствия вакцин против этой болезни СПС могут оказывать не только противовирусное, но также противовоспалительное, антиоксидантное и иммуномодулирующее действие, уменьшая тяжесть клинической картины и предотвращая или облегчая хроническое течение болезни.

Сульфатированные полисахариды имеют высокие молекулярные массы, что ограничивает возможности их применение в качестве лекарственных препаратов. Одним из подходов в направлении уменьшения размеров молекул СПС является их расщепление на более мелкие олигосахариды, которые проявляют такую же или даже более высокую биологическую активность.

СПС водорослей могут быть использованы как для профилактики, так и для лечения гепатита С. Под действием этих соединений ВГС может быть инактивирован до начала инфекции [92]. С другой стороны, СПС обладают высоким иммуномодулирующим потенциалом, что может помочь в лечении гепатита С путём удаления вируса из заражённых клеток с помощью системы иммунной защиты.

Полисахариды водорослей обладают рядом преимуществ перед другими противовирусными препаратами, такими как безопасность, низкие производственные затраты на их выделение, широкий спектр противовирусной активности, уникальный механизм действия и низкий риск формирования лекарственной устойчивости вируса. Они нетоксичны, биосовместимы и химически модифицируемы. Необходимо только расширение исследований в клинических условиях, чтобы доказать большую пользу СПС при гепатите С, тем более что в продаже существует достаточно много разрешённых к применению у человека БАД к пище, созданных на основе СПС водорослей, особенно это касается фукоидана.

Лектины гидробионтов. Лектины широко распространены в природе и могут быть получены из животных, растений, грибов и микроорганизмов [93]. Эти соединения обнаружены более чем у 300 видов гидробионтов, определено большинство их молекулярных структур, аминокислотных последовательностей и специфичности к углеводам [94, 95]. Богатыми источниками лектинов биомедицинской направленности являются морские водоросли и цианобактерии. Из морских водорослей (зелёных, бурых и особенно красных) выделен и охарактеризован ряд маннызоспецифичных лектинов, наиболее известными из которых являются гриффитсин, а из цианобактерий — циановирин-N (CV-N), микровирин (MVL), сцитовирин (SCV) и др.

Поскольку лектины водорослей представляют собой молекулы с низкой М. м., они могут быть менее антигенными при использовании в биологических моделях [96, 97]

Лектины водорослей и цианобактерий представляют собой мономерные или олигомерные белки, специфически и обратимо связывающиеся с углеводами, включая те, которые являются компонентами гликопротеинов вирусной оболочки. Ориентация углеводсвязывающего домена (CBD) лектина влияет на сродство белков к сахарам, главным образом, к олигосахаридам с высоким содержанием маннозы, и определяет их специфичность [98]. Лектины связываются не только с олигосахаридами, но и с моносахаридами, хотя и с меньшей аффинностью [99]. Каждая молекула лектина обычно содержит несколько сайтов для одновременного связывания с несколькими еди-

нищами углеводов, на которые они нацелены. Взаимодействие лектинов с углеводами может быть очень избирательным и столь же специфичным, как взаимодействие антиген/антитело.

Связывающая способность лектинов усиливается за счёт мультивалентности. Они могут использоваться в качестве сильных ингибиторов проникновения вирусов как в профилактических целях, так, по-видимому, и в лечении вирусных инфекций [96].

Один из наиболее известных лектинов — гриффитсин (GRFT), выделенный из красной водоросли *Griffithsia* spp., состоит из одной полипептидной цепи из 122 аминокислот, содержащей три сайта N-гликозилирования — 46NLS, 72NIS и 105NGS. Лектин не проявляет митогенной активности для Т-клеток человека и в отличие от других лектинов не индуцирует продукцию провоспалительных цитокинов в обработанных этим соединением клетках периферической крови человека. Проявляет незначительную токсичность для хозяина *in vitro* и *in vivo* [100]. Гриффитсин проявляет сильную противовирусную активность широкого спектра действия с EC_{50} в пикомолярном диапазоне, обладает низкой токсичностью для хозяина *in vitro* и *in vivo* и благоприятными субклиническими исходами [100]. Сильная противовирусная активность гриффитсина по отношению к оболочечным вирусам связана с уникальной структурной особенностью — образованием гомодимерного комплекса с тремя углеводсвязывающими доменами на каждом мономере, нацеленными на оболочки с высоким содержанием маннозы, присутствующие во многих патогенных оболочечных вирусах. Специфическое взаимодействие лектинов водорослей с гликанами-мишенями на оболочке вирусов подавляет вирусную инфекцию. Противовирусная активность GRFT по отношению к ВГС заключается в способности взаимодействовать с гликанами, присутствующими в белках оболочки вируса, гетеродимерах E1-E2, тем самым предотвращая прикрепление вируса к его рецептору CD81. Использование этого лектина, является перспективной терапевтической стратегией при вирусных инфекциях, в том числе, при гепатите С.

В условиях *in vivo* на химерных мышках uPA+/+SCID (uPA — активатор плазминогена урокиназного типа), в печени которых содержатся первичные гепатоциты человека, GRFT (ежедневное подкожное введение по 5 мг/кг) снижал риск заражения животных ВГС. У обработанных животных с подтверждённым инфекционным процессом наблюдалась значительная задержка в кинетике вирусной инфекции. Таким образом, GRFT может предотвращать инфекцию ВГС *in vitro* и смягчать течение инфекции *in vivo*.

У инфицированных вирусом гепатита С пациентов, перенёсших трансплантацию печени, почти

всегда наблюдается быстрое повторное заражение их нового печёночного трансплантата. Современные методы лечения не предотвращают повторное заражение трансплантата. Кроме того, в этом случае наблюдается ускоренное прогрессирование болезни. Р. Meuleman и соавт. [101] показали, что предварительная инкубация HCVpp и HCVcc с гриффитсином предотвращает инфицирование клеток гепатомы Huh-7, поскольку GRFT препятствует прямой передаче вируса гепатита С от клетки к клетке. Лектин действует на ранней стадии жизненного цикла вируса, вмешиваясь независимо от генотипа образом во взаимодействие между белками вирусной оболочки и вирусным рецептором CD81. Лечение гриффитсином хронически инфицированных пациентов с ВГС, перенёсших трансплантацию печени, может быть подходящей стратегией для предотвращения инфицирования аллотрансплантата печени. На здоровых мышках GRFT проявлял умеренную токсичность [101].

GRFT действует исключительно на фазу проникновения вируса. В то время как часовая предварительная инкубация вирусных частиц с GRFT эффективно ингибировала вирусную инфекцию ВГС, добавление лектина через 4 ч после заражения было неэффективным. Кроме того, предварительная обработка клеток Huh-7 GRFT не оказывала влияния на инфекционность ВГС, т. е. противовирусная (ВГС) активность лектина обусловлена прямым взаимодействием с вирусными частицами, а не с клетками — мишенями.

Несколько перспективных лектинов получено из цианобактерий. Так, циановирин-N (М. м. — 11 кДа) выделен из культуры пресноводной цианобактерии *Nostoc ellipsosporum*. Обладает высокой стабильностью и широким спектром противовирусной активности по отношению к оболочечным вирусам, в связи с чем представляет большой интерес в качестве профилактического противовирусного средства. Делались попытки получения рекомбинантного CV-N, при этом гены, участвующие в продукции лектина, экспрессировались в бактериях-хозяевах и в трансгенных растениях.

Лектины CV-N и MVL ингибируют проникновение ВГС, блокируя взаимодействие между E2 и рецептором CD81, присутствующим в мембране клетки-хозяина. CV-N связывается с гликанами с высоким содержанием маннозы (Ман-8 и Ман-9) в белке E2, который является частью вирусной частицы, оказывая своё ингибирующее дозозависимое действие при наномолярных концентрациях.

Достаточно давно было установлено, что циановирин-N (CV-N) обладает сильной противовирусной активностью по отношению к ВГС и нацелен на белки E1 и E2 [102]. Позже была описана умеренная противовирусная (ВГС) активность гриффитсина [101]. Y. Takebe и соавт. [103] провели исследо-

вание с целью определить могут ли специфические лектины с высоким содержанием маннозы — сциовирин (SVN) и GRFT, не имеющие структурного сходства ни между собой, ни с CV-N проявлять активность против ВГС. Оба лектина показали ингибирующую активность по отношению к ВГС с EC_{50} 0,4 нМ. При этом на культуре клеток Huh 7.5.1, инфицированных ВГС JFH-1, GRFT продемонстрировал высокий индекс селективности *in vitro* (SI — 84000); индекс селективности SVN составил >1400. GRFT был также низкотоксичным (CC_{50} =34 мкМ). Для получения более достоверных результатов авторы использовали дополнительные ВГС-химеры, включающие белки E1 и E2 из штамма J6 HCV 2a и штамма THNVV 1b. Все три штамма были чувствительны как к GRFT, так и к SVN. Они ингибировали все взятые в эксперимент вирусы, но не оказывали влияния на их проникновение в клетки. Действие лектинов на оба геноварианта авторы объясняют их нацеливанием на высокоманнозные олигосахариды E1 или E2, которые являются общими для обоих генотипов.

Как было установлено Y-Q. Min и соавт. [104] в системе «ВГС-Huh 7.5» как мономерные, так и рекомбинантно сконструированные олигомерные формы микровирина (MVN) были активны против ВГС. LUMS1, рекомбинантный лектин, состоящий из двух идентичных доменов с двумя сайтами связывания, специфически ингибировал ВГС-инфекцию. Он, кроме того, оказывал незначительное цитотоксическое действие на RBMC, линию клеток гепатомы человека Huh 7.5 и линию клеток рака печени человека HepG2.

Интересные материалы по формированию устойчивости HCV к углеводсвязывающим лектинам опубликованы L. Izquierdo и соавт. [105]. Авторы культивировали вирус гепатита С в течение более 8 нед. в растворах с повышающейся концентрацией различных лектинов, в том числе CVN, после чего секвенировали геном выделенных штаммов и идентифицировали мутации резистентности в гликопротеинах оболочки E1E2. Было установлено, что устойчивость HCV к лектинам не передаётся напрямую мутациями в генах белка оболочки E1E2, а, по-видимому, может возникать посредством косвенного механизма, включающего мутацию в других вирусных белках, которые в дальнейшем необходимо дифференцировать. Приведённые выше материалы показывают, что лектины цианобактерий могут быть очень эффективными компонентами терапии гепатита С в качестве ингибиторов проникновения возбудителя, которые можно и необходимо совершенствовать в направлении уменьшения токсичности, иммуногенности, повышения их антиинфекционных свойств и способов доставки. Однако нерешённых вопросов ещё очень много.

Чтобы избежать неприятных побочных эффектов лектинов в настоящее время разработан метод получения модифицированных лектинов, называемых лектибелами (лектибоди). Гликопротеины оболочки HCV E1/E2 сильно гликозилированы высокой долей гликанов с большим содержанием маннозы (HMGs), которые служат защитой от нейтрализующих антител и способствуют взаимодействию с рецепторами входа в клетку: до 5 сайтов на E1 и до 11 сайтов на E2 [106].

Слияние лектина и кристаллизующегося фермента антитела (Fc) иммуноглобулина G (IgG) приводит к образованию молекулы, которая может действовать как антитело, нацеленное на углеводы [93]. Лектибелы могут связываться с поверхностными гликопротеинами через их лектины, нейтрализовать вирусы или клетки, инфицированные вирусами, и выполнять Fc-опосредованные эффекторные функции антител, которые включают комплементзависимую цитотоксичность (CDC), антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC) и антителозависимый клеточно-опосредованный фагоцитоз (ADCP) [107].

В число вирусов-мишеней CVN-Fc входит ВГС. CVN-Fc, как лектибоди, обладает интенсивной ингибирующей активностью в отношении оболочечных вирусов, предотвращая прикрепление вируса и проникновение в клетку-мишень и привлекает защитные клетки хозяина в очаг инфекции [93].

Большой интерес представляют исследования M. Dent и соавт. [107], E. V. LeBlanc и соавт. [108] и O. Carola [109]. Авторы получили лектибоди Avaren-Fc на основе лектина из растения *Nicotiana benthamiana* и Fc-фрагмента IgG. Гуманизированным химерным мышам (с трансплантированными клетками печени человека) одновременно с заражением ВГС 1a генотипа вводили AV-Fc (25 мг/кг) или AV-Fc-lec. У животных, получавших AV-Fc-lec, наблюдался высокий уровень РНК ВГС в сыворотке крови с 7-го дня после заражения и до конца эксперимента (35 дней). У животных, которым вводили как 8, так и 11 доз AV-Fc РНК ВГС не обнаруживалась, т. е. трансплантаты печени были защищены от заражения. Мыши хорошо переносили терапию AV-Fc, клетки печени, по данным гистологических исследований, не претерпевали никаких изменений. Такая терапия предотвращает возникновение рецидивов после трансплантации печени у пациентов с терминальной стадией гепатита С.

Механизм нейтрализации ВГС, вероятно, заключается в данном случае в связывании высокоманнозных гликанов (HNGs) с димером белка оболочки E1/E2, которые блокируют их взаимодействие с рецепторами клетки-хозяина и проникновение вируса. При этом AV-Fc ингибировал генотипы ВГС со средним IC_{50} более чем в 100 раз

ниже, чем у мономерного лектина. Это указывает на то, что поливалентное распознавание НМGs на поверхности вируса, вызванное димеризацией лектина посредством слияния с Fc, приводит к более высокой степени ингибирования проникновения.

AV-Fc эффективно нейтрализует вирус гепатита С всех генотипов [107]. Под действием AV-Fc, приготовленном в гистидиноном буфере, у животных не менялись масса тела, а также уровень в крови альбумина и АЛТ. Таким образом, препарат хорошо переносился мышами с ослабленным иммунитетом, которым были трансплантированы клетки печени человека. Кроме того, AV-Fc обладает способностью нейтрализовать как ВИЧ, так и ВГС, т. е. может служить эффективным средством для защиты групп высокого риска (медицинские работники, потребители инъекционных наркотиков).

Имеют ли лектины перспективу широкого применения в медицине? Безусловно, но только в тех областях, где они имеют явное преимущество над другими веществами. Наиболее эффективным является их применение для распознавания углеводных рецепторов на макромолекулах и клетках.

Лектины являются чрезвычайно перспективными противовирусными средствами с большим потенциалом для распознавания, профилактики и терапии вирусных инфекций в целом и вирусного гепатита С, в частности. Например, при вирусных инфекциях лектины возможно будут использовать для очищения крови от вирусов. Однако существует пока ещё много рисков, связанных с их применением. Они включают размеры их молекул, непродолжительную стабильность в организме, для некоторых лектинов — цитотоксичность и митогенность, а также уязвимость по отношению к протеолитическим ферментам. Однако с развитием науки манипуляции с генами позволят получать более безопасные производные этих ценных белков, таких как, например, лектибелы, которые могут не только нейтрализовать вирус и ингибировать его проникновение в клетку-хозяина через специфические рецепторы клеточной поверхности, но и индуцировать выведение вируса или инфицированных клеток. Однако пока ещё этот вопрос мало разработан и требует дальнейших глубоких исследований. Проблема использования лектинов в клинической практике связана с фармакологическими препятствиями введения чужеродного белка в организм человека. Пока противовирусные лектины используются в клинике только в качестве бактерицидов против ЗППП путём введения через слизистую оболочку. Возможно их наружное применение в виде капель, полосканий, мазей, спреев, свечей.

Заключение

Основной целью терапии хронического гепатита С является элиминация возбудителя из организма после окончания курса терапии. Чаще всего для лечения этой болезни применяют интерфероны и рибавирин, реже — противовирусные препараты нового поколения. К сожалению, примерно у 10–20% пациентов лекарственные препараты могут вызывать побочные эффекты (супрессия костного мозга, гриппоподобные симптомы, психические и аутоиммунные расстройства, гемолитическая анемия), и в связи с этим необходимо прекращение лечения. У 20–30% больных требуется коррекция дозы препаратов. Такая ситуация требует разработки новых, менее реактогенных, но эффективных средств антивирусной терапии.

В последние годы учёными проводится активный поиск мало-, или вообще нетоксичных противовирусных средств среди биологически активных метаболитов из наземной и морской флоры. В настоящем обзоре представлены литературные материалы последнего десятилетия, свидетельствующие о том, что растительные полифенолы, полисахариды и лектины являются богатейшей и перспективной основой для будущих профилактических и лечебных средств против гепатита С. Эти соединения, благодаря их поливалентному действию, можно будет включать в курс лечения пациентов с гепатитом С для снижения рабочей дозы химиопрепаратов, усиления врождённого и адаптивного иммунитета, коррекции последствий окислительного стресса и уменьшения интенсивности системного воспаления. Многие из этих соединений уже представлены в аптечной сети в качестве БАД к пище (фукоидан, куркумин и пр.) и лекарственных препаратов (легалон).

Однако необходимо учитывать тот факт, что к настоящему времени ещё мало клинических доказательств эффективности и безопасности описанных выше природных соединений, хотя в экспериментах, как представлено выше, получены весьма обнадеживающие результаты. Эти вещества не вызывают привыкания, формирования устойчивости ВГС, неонкогенны, немутагенны, относительно дёшево их получение. В связи с этим авторы настоящего обзора выражают надежду, что российские учёные при мультидисциплинарном подходе к решению проблемы внесут свой вклад в разработку новых противовирусных средств с доказанной клинической эффективностью из объектов наземной и морской флоры для профилактики и лечения ВГС, что сделает терапию этой тяжёлой вирусной болезни более доступной и безопасной и позволит значительно улучшить качество жизни пациентов.

Литература/References

1. Yang J., Qi J-L., Wang X-X. *et al.* The burden of hepatitis C virus in the world, China, India and the United States from 1990 to 2019. *Front Public Health*. 2023; 11: 1041201. doi: 10.3389/fpubh.2023.1041201.
2. Львов Д. К. Вирусный гепатит С — «ласковый убийца». Российский гастроэнтерологический журнал. 1995; 1: 4–6. [Lvov D. K. Virusnyy gepatit S — «laskovyy ubijtsa». Rossijskij Gastroenterologicheskij Zhurnal. 1995; 1: 4–6. (in Russian)]
3. Kayesh M.E.H., Kohara M., Tsukiyama-Kohara K. Toll-like receptor response to hepatitis C virus infection: a recent overview. *Int J Mol Sci*. 2022; 23 (10): 5475. doi: 10.3390/ijms23105475.
4. Roy A., Roy M., Gacem A. *et al.* Role of bioactive compounds in the treatment of hepatitis: a review. *Front Pharmacol*. 2022; 13: 1051751. doi: 10.3389/fphar.2022.1051751.
5. Медицинская вирусология. Д. К. Львов (ред.). М.: МИА. 2008; 655. [Meditsinskaya virusologiya. D.K. Lvov (red.). Moscow: MIA. 2008; 655. (in Russian)]
6. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Д. К. Львов (ред.). М.: МИА. 2013; 1200. [Rukovodstvo po virusologii. Virusy i virusnye infektsii cheloveka i zhivotnykh. D.K. Lvov (red.). Moscow: MIA. 2013; 1200. (in Russian)]
7. Дзимова А.А., Ганченко Р.А., Трифонова Г.Ф., Эсауленко Э.В. Хронический гепатит С в Российской Федерации после начала программы элиминации HCV-инфекции. Гепатология и гастроэнтерология. 2020; 4 (2): 165–170. [Dzimova A.A., Ganchenko R.A., Trifonova G.F., Esaulenko E.V. Khronicheskij gepatit S v Rossijskoj Federatsii posle nachala programmy eliminatsii HCV-infektsii. Gepatologiya i Gastroenterologiya. 2020; 4 (2): 165–170. (in Russian)]
8. Кудрявцева Е.Н., Корабельникова М.И., Богомолов П.О. и др. Структура генотипов/подтипов вируса гепатита С у взрослых пациентов с хроническим гепатитом С в Московской области. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016; 15 (2): 11–18. [Kudryavtseva E.N., Korabel'nikova M.I., Bogomolov P.O. i dr. Struktura genotipov/podtipov virusa gepatita S u vzroslykh patsientov s khronicheskim gepatitom S v Moskovskoj oblasti. Epidemiologiya i Vaksino profilaktika. 2016; 15 (2): 11–18. (in Russian)]
9. Мескина Е.Р., Галкина Л.А., Целипанова Е.Е., Одинаева Н.Д. Каскад медицинской помощи детям с инфекций, вызванной вирусом гепатита С, в Московской области. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2022; 99 (5): 525–539. [Meskina E.R., Galkina L.A., Tselipanova E.E., Odinaeva N.D. Kaskad meditsinskoj pomoshchi detyam s infektsij, vyzvannoj virusom gepatita S, v Moskovskoj oblasti. Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii. 2022; 99 (5): 525–539. (in Russian)]
10. Самохвалов Е.И., Николаева Л.И., Альховский С.В. и др. Частота встречаемости отдельных субтипов вируса гепатита С в Московском регионе. Вопросы вирусологии. 2013; 1: 36–40. [Samokhvalov E.I., Nikolaeva L.I., Al'khovskij S.V. i dr. Chastota vstrechaemosti otdel'nykh subtipov virusa gepatita s v Moskovskom regione. Voprosy virusologii. 2013; 1: 36–40. (in Russian)]
11. Keikha M., Eslami M., Yousefi B. *et al.* HCV genotypes and their determinative role in hepatitis C treatment. *Virusdisease*. 2020; 31 (3): 235–240. doi: 10.1007/s13337-020-00592-0.
12. Бюллетень Всемирной Организации здравоохранения. Гепатит С. 24.06.2022. [Byulleten' Vsemirnoj Organizatsii zdravookhraneniya. Gepatit S. 24.06.2022. (in Russian)]
13. Mathur P., Kottitil S., Wilson E. Use of ribavirin for hepatitis C treatment in the modern direct-acting antiviral era. *J Clin Transl Hepatol*. 2018; 6 (4): 1–7; doi: 10.14218/JCTH.2018.00007.
14. Дерябин П.Г. Гепатит С: современное состояние и перспективы. Вопросы вирусологии. 2012; S1: 91–103. [Deryabin P.G. Gepatit S: sovremennoe sostoyanie i perspektivy. Voprosy Virusologii. 2012; S1: 91–103. (in Russian)]
15. Chowdhury P., Sahuc M-E., Rouille Y. *et al.* Theaflavins, polyphenols of black tea, inhibit entry of hepatitis C virus in cell culture. *PLoS ONE*. 2018; 13 (11): e0198226. doi: 10.1371/journal.pone.0198226.
16. Nafisi S., Roy S., Gish R. *et al.* Defining the possibilities: is short duration treatment of chronic hepatitis C genotype 1 with sofosbuvir-containing regimens likely to be as effective as current regimens? *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2016; 14 (1): 41–56. doi: 10.1586/14787210.2016.1114883.
17. Ghosh S., Sarkar T., Pati S. *et al.* Novel bioactive compounds from marine sources as a tool for functional food development. *Front Mar Sci*. 2022; Sec. Marine Biotechnology and Bioproducts. 2022; 9: 2022. doi: <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.832957>.
18. Kaihatsu K., Yamabe M., Ebara Y. Antiviral mechanism of action of epigallocatechin-3-O-gallate and its fatty acid esters. *Molecules*. 2018; 23 (10): 2475. doi: 10.3390/molecules23102475.
19. Niepmann M., Gerresheim G. K. Hepatitis C virus translation regulation. *Int J Mol Sci*. 2020; 21 (7): 2328. doi: 10.3390/ijms21072328.
20. Иванов А.В., Кузякин А.О., Кочетков С.Н. Молекулярная биология вируса гепатита С. Успехи биологической химии. 2005; 45: 37–86. [Ivanov A.V., Kuz'yakin A.O., Kochetkov S.N. Molekulyarnaya biologiya virusa gepatita S. Uspekhi Biologicheskoy Khimii. 2005; 45: 37–86. (in Russian)]
21. Alazard- Dany N., Denolly S., Boson B., Cosset F.L. Overview of HCV lyfe cycle with a special focus on current and possible future antiviral targets. *Viruses*. 2019; 11: 30. doi: 10.3390/v11010030.
22. Butt F., Shahid M., Hassan M. *et al.* A review on hepatitis C virus: role of viral and host-cellular factors in replication and existing therapeutic strategies. *Egypt Liver Journal*. 2022; 12: 71. doi: 10.1186/s43066-022-00232-w.
23. Tabata K., Neufeldt C. J., Bartenschlager R. Hepatitis C virus replication. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2020; 10 (3): a037093. doi: 10.1101/cshperspect.a037093.
24. Tremblai N., Young P.A., Lamarre D. HCV NS3/4A protease inhibitors and the road to effective direct-acting antiviral therapies. *Hepatitis C Virus*. 2016; 257–285.
25. Loutfy S.A., Elberry M. H., Farroh K. Y. *et al.* Antiviral activity of chitosan nanoparticles encapsulating curcumin against hepatitis C virus genotype 4a in human hepatoma cell lines. *Int J Nanomedicine*. 2020; 15: 2699–2715. doi: 10.2147/IJN.s241702.
26. Fatima K., Mathew S., Suhail M. *et al.* Docking studies of Pakistani HCV NS3 helicase: a possible antiviral drug target. *PLoS ONE*. 2014; 9 (9): e106339. doi: 10.1371/journal.pone.0106339.
27. Ткаченко Л.И., Малеев В.В., Сариева Д.М. Нарушение липидного обмена у больных хроническим вирусным гепатитом С. Архив внутренней медицины. 2015; 6: 50–56. [Tkachenko L.I., Maleev V.V., Sariyeva D.M. Narushenie lipidnogo obmena u bol'nykh khronicheskim virusnym gepatitom S. Arkhiv Vnutrennej Meditsiny. 2015; 6: 50–56. (in Russian)]
28. Cheng J.J., Li J. R., Huang M. H. *et al.* CD36 is a co-receptor for hepatitis C virus E1 protein attachment. *Sci Rep*. 2016; 6:21808. doi: 10.1038/srep21808.
29. Elgretli W., Chen T., Kronfli N., Sebastiani G. Hepatitis C virus-lipid interplay: pathogenesis and clinical impact. *Biomedicines*. 2023; 11 (2): 271. doi: 10.3390/biomedicines11020271.
30. Allander T., Fors X., Emerson S. U., Purcell R. H., Bukh J. Hepatitis C virus envelope protein E2 binds to CD81 of tamarins. *Virology*. 2000; 277 (2): 358–67. doi: 10.1006/viro.2000.0617.
31. Lapa D., Garbuglia A. R., Capobianchi M. R., Del Porto P. Hepatitis C virus genetic variability, human immune response, and genome polymorphisms: which is the interplay? *Cells*. 2019; 8 (4): 305. doi: 10.3390/cells8040305.
32. Ploss A., Kapoor A. Animal models of hepatitis C virus infection. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2020; 10 (5): a036970. doi: 10.1101/cshperspect.a036970.
33. Billerbeck E., Wolfisberg R., Fahnoe U., Xiao J. W., Quirk C., Luna J. M., Cullen J. M., Hartlage A. S., Chiriboga L., Ghoshal K., Lipkin W. L., Bukh J., Scheel T. K.H., Kapoor A., Rice C. M. Mouse models of acute and chronic hepatitis C virus infection. *Science*. 2017; 357 (6347): 204–208. doi: 10.1126/science.aal1962.
34. Wakita T. Cell culture systems of HCV using JFH-1 and other strains. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2019; 9 (11): a036806. doi: 10.1101/cshperspect.a036806.
35. Montenegro-Landivar M.F., Tapia-Quiros P., Vecino X. *et al.* Polyphenols and their potential role to fight viral diseases: an review. *Science of the Total Environment*. 2021; 801: 149719. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.149719.
36. Giovinnazzo G., Gerardi C., Uberti-Foppa C., Lopalco L. Can natural polyphenols help in reducing cytokine storm in COVID-19 patients? *Molecules*. 2020; 25: 5888. doi: 10.3390/molecules25245888.
37. Suwall M.S., Fu H., Sun H. *et al.* The impact of polyphenol on general nutrient metabolism in the monogastric gastrointestinal tract. *J Food Qual*. 2020; 2020: 1–12. doi: 10.1155/2020/5952834.
38. Lewandowska U., Szewczyk K., Hrabec E. *et al.* Overview of metabolism and bioavailability enhancement of polyphenols. *J Agric Food Chem*. 2013; 61 (50): 12183–12199. doi: 10.1021/jf404439b.
39. Zhang Y., Yu W., Zhang L. *et al.* The interaction of polyphenols and the gut microbiota in neurodegenerative diseases. *Nutrients*. 2022; 14 (24): 5373. doi: 10.3390/nu14245373.
40. Chojnacka K., Skrzypczak D., Izdorczyk G. *et al.* Antiviral properties of polyphenols from plants. *Foods*. 2021; 10 (10): 2277. doi: 10.3390/foods10102277.
41. Кролевец А.А., Мячикова Н.И., Думачева Е.В. и др. Наноструктурированные экстракты зелёного чая и их свойства. Научный результат. Технология бизнеса и сервиса. 2018; 4 (1). [Krolevets A.A., Myachikova N.I., Dumacheva E.V. i dr. Nanostrukturirovannyye ekstrakty zelenogo chaya i ikh svoystva. Nauchnyy rezul'tat. Tekhnologiya Biznesa i Servisa. 2018; 4 (1). (in Russian)]
42. Xu J., Xu Z., Zheng W. A review of the antiviral role of green tea catechins. *Molecules*. 2017; 22: 1337. doi: 10.3390/molecules22081337.
43. Chow H-H. S., Cai Y., Hakim I. A. *et al.* Pharmacokinetics and safety of green tea polyphenols after multiple-dose administration of epigallocatechin gallate and polyphenol E in healthy individuals. *Clin Cancer Res*. 2003; 9: 3312–3319.
44. Chen C., Qiu H., Gong J. *et al.* (–)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits the replication cycle of hepatitis C virus. *Arch Virol*. 2012; 157: 1301–1312. doi: 10.1007/s00705-012-1304-0.
45. Ciesek S., Hahn T., Colpitts C. *et al.* The green tea polyphenol. Epigallocatechin-3-gallate, inhibits hepatitis C virus entry. *Hepatology*. 2011; 54 (6): 1947–1955; doi: 10.1002/hep.24610.
46. Calland N., Albecka A., Belouard S. *et al.* (–)-Epigallocatechin-3-gallate is a new inhibitor of hepatitis C virus entry. *Hepatology*. 2012; 55: 720–729. doi: 10.1002/hep.24803.

47. Mekky R.Y., El-Ekiaby N. M., Hamza M. T. et al. Mir-194 is a hepatocyte gate keeper hindering HCV entry through targeting CD81 receptor. *J Infect.* 2015; 70 (1): 78–87. doi: 10.1016/j.jinf.2014.08.013.
48. Lin Y-T, Wu Y-H, Tseng C-K. et al. Green tea phenolic epicatechins inhibit hepatitis C virus replication via cyclooxygenase-2 and attenuate virus-induced inflammation. *PLoS ONE* 2013; 8 (1): e54466. doi: 10.1371/journal.pone.0054466.
49. Левданский В.А., Левданский А.В., Кузнецов Б.Н. Выделение и изучение проантоцианидов коры кедр *Pinus sibirica*. Химия растительного сырья. 2022; 4: 99–105. doi: <https://doi.org/10.14258/jcprm.20220411490>. [Levdanskij V.A., Levdanskij A.V., Kuznetsov B.N. Vydelenie i izuchenie proantotsianidov kory kedra *Pinus sibirica*. Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya. 2022; 4: 99–105. doi: <https://doi.org/10.14258/jcprm.20220411490>.
50. Calland N., Sahuc M-E., Belouard S. et al. Polyphenols inhibit hepatitis C virus entry by a new mechanism of action. *J Virol.* 2015; 89 (19): 10053–10063. doi: 10.1128/JVI.01473-15.
51. Shimizu J.F., Lima C. S., Pereira C. M. et al. Flavonoids from *Pterogyne nitens* inhibit hepatitis C virus entry. *Sci Rep.* 2017; 7: 16127. doi: 10.1038/s41598-017-16336-y.
52. Rojas A., Del Campo J., Clement S. et al. Effect of Quercetin on hepatitis C virus life cycle: from viral to host targets. *Sci Rep.* 2016; 6: 31777. doi: 10.1038/srep31777.
53. Bachmetov L., Gal-Tanamy M., Shapira A. et al. Suppression of hepatitis C virus by the flavonoid quercetin is mediated by inhibition of NS3 protease activity. *J Viral Hepat.* 2012; 19 (2): e81–88. doi: 10.1111/j.1365-2893.2011.01507.x.
54. Bhattacharya D., Ansari I. H., Hamatake R. et al. Pharmacological disruption of hepatitis C NS5A protein intra- and intermolecular conformations. *J Gen Virol.* 2014; 95 (Pt 2): 363–372. doi: 10.1099/vir.0.054569-0.
55. Lu N.T., Crespi C.M., Liu N.M. et al. A phase I dose escalation study demonstrates quercetin safety and explores potential for bioflavonoid antivirals in patients with chronic hepatitis C. *Phytother Res.* 2016; 30 (1): 160–168. doi: 10.1002/ptr.5518.
56. Костюк В.А. Биологическая активность куркумина и перспективы его фармакологического использования. Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2022; 20 (2): 144–151. doi: <http://journal-grsmu.by/index.php/ois/article/view/2775>. [Kostjuk V.A. Biologicheskaya aktivnost' kurkumina i perspektivy ego farmakologicheskogo ispol'zovaniya. Zhurnal Grodnenskogo Gosudarstvennogo Meditsinskogo Universiteta. 2022; 20 (2): 144–151. doi: <http://journal-grsmu.by/index.php/ois/article/view/2775>. (in Russian)]
57. Colpitts A.C.C., Schang L. M., Rachmawaty H. et al. Turmeric curcumin inhibits entry of all hepatitis C virus genotypes into human liver cells. *Gut.* 2014; 63 (7): 1137–1149. doi: 10.1136/gutjnl-2012-304299.
58. Ferreira L.L.C., Abreu M. P., Costa C. B. et al. Curcumin and its analogs as a therapeutic strategy in infections caused by RNA genome viruses. *Food Environ Virol.* 2022; 14: 120–137. doi: 10.1007/s12560-022-09514-3.
59. Deljoo S., Rabiee N., Rabiee M. Curcumin-hybrid nanoparticles in drug delivery system (review). *Asian J Nanosci Mat.* 2019; 2 (1): 66–91. doi: <https://doi.org/10.26655/ajnanomat.2019.1.5>.
60. Соловьева Н.Л., Сокурченко М.С., Зырянов О.А. Биодоступность куркумина и методы её повышения (обзор). Разработка и регистрация лекарственных средств. 2018; 3: 46–53. [Solov'eva N.L., Sokurenko M. S., Zyryanov O. A. Biodostupnost' kurkumina i metody ee povysheniya (obzor). Razrabotka i Registratsiya Lekarnykh Sredstv. 2018; 3: 46–53. (in Russian)]
61. Yusuf H., Novitasari E. K.D.D., Purnami N. L.W. et al. Formulation design and cell cytotoxicity of curcumin-loaded liposomal solid gels for anti-hepatitis C virus. *Adv Pharmacol Pharm Sci.* 2022; 3336837. doi: 10.1155/2022/3336837. eCollection 2022.
62. Wahyuni T.S., Permatasari A., Widiandani T. et al. Antiviral activities of curcuma genus against hepatitis C virus. *NPC. Nat Product Communications.* 2018; 13 (2): 1579–1582.
63. Naseri S., Darroudi M., Aryan E. et al. The antiviral effects of curcumin nanomicelles on the attachment and entry of hepatitis C virus. *Iran J Virol.* 2017; 11: 29–35.
64. Blaising J., Levy P.L., Gondeau C. et al. Silibinin inhibits hepatitis C virus entry into hepatocytes by hindering clathrin-dependent trafficking. *Cell Microbiol.* 2013; 15 (11): 1866–1882. doi: 10.1111/cmi.12155.
65. Esser-Nobis K., Romero-Brev L., Ganten T.M. et al. Analysis of hepatitis C virus resistance to silibinin *in vitro* and *in vivo* points to a novel mechanism involving nonstructural protein 4B. *Hepatology.* 2013; 57 (3): 953–963. doi: 10.1002/hep.26260.
66. DebRoy S., Hiraga N., Itamura M. et al. Hepatitis C virus dynamics and cellular gene expression in uPA-SCID chimeric mice with humanized livers during intravenous silibinin monotherapy. *J Viral Hepat.* 2016; 23: 708–717; doi: 10.1111/jvh.12551.
67. Казюлин А.Н., Шестаков В.А., Гончаренко Ю.А. и др. Препараты стандартизированного силимарина. Механизмы действия и перспективы клинического применения. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2018; 7: 73–85. [Kazjulin A. N., Shestakov V.A., Goncharenko Yu.A. i dr. Preparaty standartizirovannogo silimarina. Mekhanizmy dejstviya i perspektivy klinicheskogo primeneniya. Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya. 2018; 7: 73–85. (in Russian)]
68. Liu C-H., Jassey A., Hsu H-Y, Lin L-T. Antiviral activities of silymarin and derivatives. *Molecules.* 2019; 24 (8): 1552. doi: 10.3390/molecules24081552.
69. Wagoner J., Negash A., Kane O. J. et al. Multiple effects of silymarin on the hepatitis C virus lifecycle. *Hepatology.* 2010; 51 (6): 1912–1921. doi: 10.1002/hep.23587.
70. Ahmed S., Ullah N., Jalil N.A.C. et al. Effect of silymarin as an adjunct therapy in combination with sofosbuvir and ribavirin in hepatitis C patients: a miniature clinical trial. *Oxid Med Cell Longev.* 2022; 2022: 9199190. doi: 10.1155/2022/9199190.
71. Lozano-Sepulveda S., Rincon-Sanches A. R., Rivas-Estilla A. M. Antioxidants benefits in hepatitis C infection in the new DAAs era. *Ann Hepatol.* 2019; 18 (3): 410–415. doi: 10.1016/j.aohp.2019.04.004.
72. Gheda S.F., El-Adawi H. I., El-Deeb N. M. Antiviral profile of brown and red seaweed polysaccharides against hepatitis C virus. *Iran J Pharm Res.* 2016; 15 (3): 483–491.
73. Hamed L., Ozogul F., Ozogul Y., Regenstein J. M. Marine bioactive compounds and their health benefits: a review. *Comprehensive reviews in Food Science and Food Safety.* 2015; 14 (4): 446–465. doi: 10.1111/1541-4337.12136.
74. Besednova N.N., Andryukov B. G., Zaporozhets T. S. et al. Antiviral effects of polyphenols from marine algae. *Biomedicines.* 2021; 9 (2): 200. doi: 10.3390/biomedicines9020200.
75. Heffernan N., Smyth T. J., Soler-Villa A. et al. Phenolic content and antioxidant activity of fractions obtained from selected Irish microalgae species (*Laminaria digitata*, *Fucus serratus*, *Gracilaria gracilis* and *Codium fragile*). *J Appl Phycol.* 2014; 27: 519–530; doi: 10.1007/s10811-014-0291-9.
76. Имбс Т.И., Звягинцева Т.Н. Флоротаннины — полифенольные метаболиты бурых водорослей. Биология моря. 2018; 44: 217–227. doi: <https://doi.org/10.1134/SO134347518040010>. [Imbs T. I., Zvyagintseva T. N. Florotanniny — polifenol'nye metabolity burykh vodoroslej. Biologiya morya. 2018; 44: 217–227. doi: <https://doi.org/10.1134/SO134347518040010>. (in Russian)]
77. Li A-N., Li S., Zhang Y. J. et al. Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients.* 2014; 6: 6020–6047. doi: 10.3390/nu6126020.
78. Cotas J., Leandro A., Monteiro P. et al. Seaweed phenolics: from extraction to application. *Mar Drugs.* 2020; 18 (8): 384. doi: 10.3390/md18080384.
79. Chen K-J., Tseng C-K., Chang F-R. et al. Aqueous extract of the edible *Gracilaria tenuistipitata* inhibits hepatitis C viral replication via cyclooxygenase-2 suppression and reduces virus-induced inflammation. *PLoS ONE.* 2013; 8 (2): e57704; doi: 10.1371/journal.pone.0057704.
80. Evans H., Plummer C., Luck M. et al. Anti-viral composition. Patent WO 2020/115489 A1. 11.06.2020.
81. Li S., Tan H. Y., Wang N. et al. The potential and action mechanism of polyphenols in the treatment of liver diseases. *Therapeutic Potential of Natural Antioxidants.* 2018; article ID 8394818. doi: 10.1155/2018/8394818.
82. Fitton J.H., Stringer D. N., Park A. Y., Karpiniec S. S. Therapies from fucoidan: new developments. *Mar Drugs.* 2019; 17 (10): 571. doi: 10.3390/md17100571.
83. Wassie T., Niu K., Xie C. et al. Extraction techniques, biological activities and health benefits of marine algae *Enteromorpha prolifera* polysaccharide. *Fronti Nutr.* 2021; 8: 747928. doi: 10.3389/fnut.2021.747928.
84. Zheng L-X., Liu Y., Tang S. et al. Preparation methods, biological activities, and potential applications of marine algae oligosaccharides: a review. *Food Science and Human Wellness.* 2023; 12 (2): 359–370. doi: 10.1016/j.fshw.2022.07.038.
85. Martins A., Alves C., Silva J. et al. Sulfated polysaccharides from macroalgae — a simple roadmap for chemical characterization. *Polymers.* 2023; 15 (2): 399. doi: 10.3390/polym15020399.
86. Shi F., Liu Z., Liu Y. et al. Comparison of physicochemical characteristics and macrophage immunostimulatory activities of polysaccharides from *Chlamys farreri*. *Mar Drugs.* 2020; 18 (8): 429. doi: 10.3390/md18080429.
87. Claus-Desbonnet H., Nikly E., Nalbantova V. et al. Polysaccharides and their derivatives as potential antiviral molecules. *Viruses.* 2022; 14 (2): 426. doi: 10.3390/v14020426.
88. Panggabean J.A., Adiguna S. P., Rahmawati S. et al. Antiviral activities of algal-based sulfated polysaccharides. *Molecules.* 2022; 27 (4): 1178. doi: 10.3390/molecules27041178.
89. Bai R.G., Twikene R. Potential antiviral properties of industrially important marine algal polysaccharides and their significance in fighting a future viral pandemic. *Viruses.* 2021; 13 (9): 1817. doi: 10.3390/v13091817.
90. Mori N., Nakasone K., Tomomori K., Ishikawa C. Beneficial effects of fucoidan in patients with chronic hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol.* 2012; 18 (18): 2225–2230. doi: 10.3748/wjg.v18.i18.2225.
91. Филонова Н.В., Запорожец Т.С., Ермолицкая С.А. и др. Влияние фукоидана из *Fucus evanescent* на показатели цитотоксического статуса у пациентов с хроническим гепатитом С. Цитокины и воспаление. 2011; 10 (4): 105–110. [Filonova N. V., Zaporozhets T. S., Ermolitskaya S. A. i dr. Vliyaniye fukoidana iz *Fucus evanescent* na pokazateli tsitotoksinovogo statusa u patsientov s khronicheskim gepatitom S. Tsitokiny i Vospalenie. 2011; 10 (4): 105–110. (in Russian)]
92. Ueno M., Nogawa M., Siddiqui R. et al. Acidic polysaccharides isolated from marine algae inhibit the early step of viral infection. *Int J Biol Macromol.* 2019; 124: 282–290. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.152.
93. Nabi-Affadi M., Heydari M., Zalpoor H. et al. Lectins and lectinobodies: potential promising antiviral agents. *Cell Mol Biol Lett.* 2022; 27: 37. doi: 10.1186/s11658-022-00338-4.

94. Черников О.В., Молчанова В.И., Чикаловец И.В. и др. Лектины морских гидробионтов (обзор). Биохимия. 2013; 78 (7): 977–989. [Chernikov O. V., Molchanova V. I., Chikalovets I. V. et al. Lektiny morskikh gidrobiontov (obzor). Biokhimiya. 2013; 78 (7): 977–989. (in Russian)]
95. Cheung R.C.F., Wong J. H., Pan W. et al. Marine lectins and their medicinal application. Appl Microbiol Biotechnol. 2015; 99: 3755–3773. doi: 10.1007/s00253-015-6518.
96. Mitchell C.A., Ramessar K., Keefe B. R. Antiviral lectins: selective inhibitors of viral entry. Antiviral Res. 2017; 142: 37–54. doi: 10.1016/j.antiviral.2017.03.007.
97. Singh R.S., Thakur S. R., Bansal P. Algal lectins biomolecules for biomedical research. Crit Rev Microbiol. 2015; 41 (1): 77–88. doi: 10.3109/1040841X.2013.798780.
98. Mazur-Marzec H., Ceglowska M., Konkel R., Pyrc K. Antiviral cyanometabolites — a review. Biomolecules. 2021; 11 (3): 474. doi: 10.3390/biom11030474.
99. Romero J.A.F., Paglini M. G., Priano C. et al. Algal and cyanobacterial lectins and their antimicrobial properties. Mar Drugs. 2021; 19 (12): 687. doi: 10.3390/md19120687.
100. Lusvardi S., Bewley C. A. Griffitsin: an antiviral lectin with outstanding therapeutic potential. Viruses. 2016; 8 (10): 296. doi: 10.3390/v8100296.
101. Meuleman P., Albecka A., Belouzard S. et al. Griffitsin has antiviral activity against hepatitis C virus. Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55 (11): doi: 10.1128/AAC.00633-11.
102. Helle E., Wychowski C., Vu-Dac N. et al. Cyanovirin-N inhibits hepatitis C virus entry by binding to envelope protein glycans. J Biol Chem. 2006; 281: 25177–25183. doi: 10.1074/jbc.M602431200.
103. Takebe Y., Saucedo C. J., Lund G. et al. Antiviral lectins from red and blue-green algae show potent *in vitro* and *in vivo* activity against hepatitis C virus. PLoS ONE. 2013; 8 (5): e64449. doi: 10.1371/journal.pone0064449.
104. Min Y.-Q., Duan X.-C., Zhou Y.-D. et al. Effects of microvirin monomers and oligomers on hepatitis C virus. Biosci Rep. 2017; 37: BSR20170015. doi: 10.1042/BSR20170015.
105. Izquierdo L., Oliveira C., Fournier C. et al. Hepatitis C virus resistance to carbohydrate-binding agents. PLoS ONE. 2016; 11 (2): e0149064/doi: 10.1371/journal.pone.1149064.
106. Lavie M., H., Hanouille X., Dubuisson J. Glycan shielding and modulation of hepatitis C virus neutralizing antibodies. Front Immunol. 2018; 9:910; doi: 10.3389/fimmu.2018.00910.
107. Dent M., Hamorsky K., Dubuisson J. et al. Safety and efficacy of avaren-Fc lectibody targeting HCV high-mannose glycans in a human liver chimeric mouse model. Cell Mol Gastroenterol Hepatol. 2020; 11: 185–198. doi: 10.1016/j.jcmgh.2020.08.009.
108. LeBlanc E. V., Kim Y., Capicciotti C. J., Colpitts C. C. Hepatitis C virus glycan-dependent interactions and the potential for novel preventative strategies. Pathogens. 2021; 10 (6): 685. doi: 10.3390/pathogens10060685.
109. Carola O. Effect of avaren-Fc lectibody on HCV in a human liver chimeric mouse model. J Drug Abuse. 2022; 8: 117. <https://www.primescholars.com/drug-abuse.html>.

Информация об авторах

Беседнова Наталья Николаевна — д. м. н., профессор, академик РАН, главный научный сотрудник Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия. ORCID ID: 0000-0002-2760-9778

Запорожец Татьяна Станиславовна — д. м. н., главный научный сотрудник лаборатории респираторных инфекций Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия. ORCID ID: 0000-0002-8879-8496. eLIBRARY SPIN-код: 90045. Scopus Author ID: 7003627907. WoS ID: Y-9425-2018

Ермакова Светлана Павловна — д. х. н., руководитель лаборатории химии ферментов, Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия. ORCID ID: 0000-0002-5905-2046

Кузнецова Татьяна Алексеевна — д. м. н., главный научный сотрудник лаборатории иммунобиологических препаратов «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0002-4315-6959. ResearcherID: I-8399-2018. eLIBRARY SPIN-код: 2359-1132. Scopus Author ID: 7202571979

Галкина Ирина Вячеславовна — к. м. н., ведущий научный сотрудник Школы медицины и наук о жизни Дальневосточного федерального университета, Владивосток, Россия. ORCID ID: 0000-0001-7000-5833. eLIBRARY SPIN-код: 7224-0756. Scopus Author ID: 7003393038.

Федянина Людмила Николаевна — д. м. н., Школы медицины и наук о жизни Дальневосточного федерального университета, Владивосток, Россия. ORCID ID: 0000-0002-9849-8358. Researcher ID: AAG-4121-2019. eLIBRARY SPIN-код: 9803-6837. Scopus Author ID: 24481010600

Омельченко Руслан В. — врач-эпидемиолог, Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае, Владивосток, Россия

Шелканов Михаил Юрьевич — д. б. н., директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0001-8610-7623. Researcher ID: L-6164-2016. Scopus Author ID: 7004251692. eLIBRARY SPIN-код: 5736-7230

About the authors

Natalia N. Besednova — D. Sc. in Medicine, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher of the G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russia. ORCID ID: 0000-0002-2760-9778

Tatyana S. Zaporozhets — D. Sc. in Medicine, Chief Researcher at the Laboratory of Respiratory Infections, G. P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Vladivostok, Russia. ORCID ID: 0000-0002-8879-8496. eLIBRARY SPIN: 90045 Scopus Author ID: 7003627907 WoS ID: Y-9425-2018

Svetlana P. Ermakova — D. Sc. in Chemistry, Head of the Laboratory of Enzyme Chemistry, G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry of the Far-Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia. ORCID ID: 0000-0002-5905-2046

Tatyana A. Kuznetsova — D. Sc. in Medicine, Chief Researcher of the Laboratory of Immunobiological Preparations, G. P. Somov Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology Rospotrebnadzor, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0002-4315-6959. ResearcherID: I-8399-2018. eLIBRARY SPIN-код: 2359-1132. Scopus Author ID: 7202571979

Irina V. Galkina — Ph.D. in Medicine, School of Medicine and Life Sciences of Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation. ORCID ID: 0000-0001-7000-5833. eLIBRARY SPIN: 7224-0756. Scopus Author ID: 7003393038.

Lyudmila N. Fedyanina — D.Sc. in Medicine, School of Medicine and Life Sciences of Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation. ORCID ID: 0000-0002-9849-8358. ResearcherID: AAG-4121-2019. eLIBRARY SPIN: 9803-6837. Scopus Author ID: 24481010600.

Omelchenko Ruslan V. — Epidemiologist, Center for Hygiene and Epidemiology in Primorsky Region, Vladivostok, Russia

Mikhail Yu. Shchelkanov — D. Sc. in Biology, Director of the G. P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0001-8610-7623. Researcher ID: L-6164-2016. Scopus Author ID: 7004251692 eLIBRARY SPIN: 5736-7230

