

Таблица 2

**Антибиотическая активность метаболитов штаммов грибов рода *Trichoderma* в отношении условно-патогенных микроорганизмов**

| Штаммы условно-патогенных микроорганизмов | Диаметр зоны подавления роста (М±m), мм; 10 сут. культивирования |        |      |        |      |        |       |        |      |        |
|-------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|--------|------|--------|------|--------|-------|--------|------|--------|
|                                           | Исследуемые штаммы грибов рода <i>Trichoderma</i>                |        |      |        |      |        |       |        |      |        |
|                                           | МК                                                               | 119-85 | 97/6 | М 99/5 | К-12 | ТН4    | 01-00 | МО     | 0-97 | 30     |
| <i>A. baumannii</i> 30                    | -                                                                | -      | -    | -      | -    | 20,0±4 | -     | 17,0±2 | -    | 19,0±2 |
| <i>A. baumannii</i> 40                    | 12,0±3                                                           | 16,0±3 | -    | 17,0±2 | -    | -      | -     | -      | -    | -      |
| <i>St. haemoliticus</i> 3                 | -                                                                | 16,0±1 | -    | 14,0±3 | -    | -      | -     | -      | -    | -      |

Примечание: «-» – антибиотическая активность не выявлена.

вый подавлял *A. baumannii* штамм 40 с максимальной зоной подавления роста на десятые сутки 16±3 мм и *S. haemoliticus* штамм 3 с максимальной зоной подавления на десятые сутки 16±1 мм; второй подавлял аналогичные штаммы с максимальной зоной подавления роста на десятые сутки 17±2 мм и *S. haemoliticus* 3 с максимальной зоной подавления на десятые сутки 14±3 мм.

Антибиотический эффект в отношении изучаемых бактерий наблюдался у штаммов ТН 4, МК, МО и штамма 30.

**Заключение.** Показано, что диаметр зоны подавления роста с увеличением продолжительности эксперимента увеличивается, но незначительно.

Проведённые исследования показывают, что исследованные штаммы 119-

85 и М 99/5 грибов рода *Trichoderma* могут рассматриваться в качестве перспективных продуцентов новых биологически активных веществ.

### Литература

1. Ершова Е.Ю. Поиск продуцентов антибиотиков грибного происхождения, эффективных в отношении метициллинрезистентных стафилококков: автореф. дисс. ... канд. биол. наук / Е.Ю. Ершова. – М., 2003. – 26 с.
2. Эршова Е.Ю. Поиск продуцентов антибиотиков грибного происхождения, эффективных в отношении метициллинрезистентных стафилококков: автореф. дисс. ... канд. биол. наук / Е.Ю. Ершова. – М., 2003. – 26 с.
3. Филиппова И.А. Естественное лекарство нового тысячелетия: грибы против рака / И.А. Филиппова. – СПб.: Диля, 2005. – 128 с.
4. Filippova I.A. The natural medicine of the new millennium: Fungi against cancer / I.A. Filippova. – SPb.: Dilya, 2005. – 128 p.

3. Шариков А.М. Исследование антибиотической активности гриба чаги в отношении возбудителя туляремии / А.М. Шариков, Н.В. Пашенова, Д.А. Нешумаев, И.А. Новицкий // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2010. – № 1. – С. 64-66.

Sharikov A.M. Investigation of antibiotic activity of the fungus Polyporus sulphureus against the pathogen of tularemia / A.M. Sharikov, N.V. Pashenova, D.A. Neshumaev, I.A. Novitskiy // Pacific Medical Journal. – 2010. – № 1. – P. 64-66.

4. Шариков А.М. Исследование антибактериальной активности метаболитов некоторых высших грибов Средней Сибири / А.М. Шариков // Современные наукоемкие технологии. – 2010. – № 6. – С. 128-130.

Sharikov A.M. Investigation of antimicrobial activity of metabolites of some higher fungi of Central Siberia/ A.M. Sharikov // Modern high technologies. – 2010. – № 6. – P. 128-130.

5. Шариков А.М. Выявленная антибиотическая активность грибов рода *Trichoderma* в отношении штамма *Bacillus anthracis* СТИ-1 / А.М. Шариков // Научная перспектива. – 2010. – № 10. – С. 92-93.

Sharikov A.M. Expressed antibiotic activity of fungi of the genus *Trichoderma* against *Bacillus anthracis* STI-1 strain / A.M. Sharikov // Scientific Perspective. – 2010. – № 10. – P. 92-93.

6. Howell C.R. Relevance of mycoparasitism in the biological control of *Rhizoctonia solani* by *Gliocladium virens* / C.R. Howell // Phytopathology, 1987. – 77. – P. 992-994.

7. Molitoris H.P. Mushrooms in medicine / H.P. Molitoris // Folia Microbiol. – 1994. – V. 39. – N. 2. P. 91-98.

8. To the issue of using of the fungi of *Trichoderma* kind as the producer of the biologically active substances / A.M. Sharikov [et al.] // Program & abstracts: The XII Symposium of the Russia – Japan medical exchange. – Krasnojarsk, 2005. – P. 661-662.

А.А. Сергиевич, М.К. Грачев, Г.И. Курочкина, Т.А. Баталова, М.Л. Пластинин

## СОДЕРЖАНИЕ ЭЛЕМЕНТОВ КАЛЬЦИЯ И ФОСФОРА В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРОИЗВОДНЫХ β-ЦИКЛОДЕКСТРИНА

УДК 612.821

Исследовано содержание элементного содержания кальция и фосфора в плазме крови у лабораторных животных при применении новых производных соединений, являющихся клатратами и конъюгатами β-циклодекстрина с парааминобензойной кислотой. Выявлена положительная динамика содержания определяемых элементов под влиянием синтезированных веществ. Наиболее позитивная тенденция обнаружена в опытной группе, получавшей конъюгат β-циклодекстрина с парааминобензойной кислотой.

**Ключевые слова:** парааминобензойная кислота, β-циклодекстрин, фосфор, кальций

The maintenance of the element maintenance of calcium and phosphorus in plasma of blood at laboratory animals is investigated at application of the new derivative connections which are being clathrate and conjugate of β-cyclodextrin with acid paraaminobenzoic were used. Positive dynamics of the maintenance of defined elements under influence of the synthesized substances is revealed. The most positive tendency is found out in the skilled group received conjugate of β-cyclodextrin with acid paraaminobenzoic.

**Keywords:** acid paraaminobenzoic, β-cyclodextrin, phosphorus, calcium.

ГОУ ВПО Амурская ГМА Росздрава (г. Благовещенск): **СЕРГИЕВИЧ Александр Александрович** – к.б.н., ст. препод., altexes@mail.ru, **БАТАЛОВА Татьяна Анатольевна** – к.х.н., зав. каф., batalova\_ta@mail.ru, **ПЛАСТИНИН Михаил Львович** – к.х.н., зав. каф., tinin@mail.ru. ГОУ ВПО Московский ГПУ Министерства образования и науки РФ: **Грачев МИХАИЛ Константинович** – д.х.н., проф., MKGratchev@mtu-net.ru, **КУРОЧКИНА Галина Ивановна** – к.х.н., с.н.с.

Поддержание фосфорно-кальциевого гомеостаза – необходимое условие для нормальной жизнедеятельности организма.

Около 99 % всего количества кальция и 85 % фосфора находится в костной ткани, являющейся основным депо

в организме. Выделяют различные механизмы, принимающие участие в усвоении данных минералов в организме. В последнее время большую роль в кальциево-фосфорном обмене придан почечному аппарату [5].

Существует множество различных

факторов, способных влиять на механизмы всасывания данных элементов. Одним из таких является парааминобензойная кислота, физиологическая роль которой до конца еще не изучена. Известно, что как химическое соединение парааминобензойная кислота (ПАБК) известна с 1863 г., с 1939 г. – как вещество, обладающее свойствами витамина, а с 1940 г. установлено её антибактериальное свойство по отношению к сульфаниламидам и она была выделена из дрожжей, после чего показана ее необходимость в синтезе фолиевой кислоты [13]. Кроме этого исследователями отмечено, что ПАБК способна стимулировать физическую выносливость и работоспособность [7], а также позитивно влиять на состояние центральной нервной системы [4,6]

Наряду с этим известно, что  $\beta$ -циклодекстрин (I) и его многочисленные производные нашли широкое применение в физиологии и фармакологии, главным образом как «контейнеры» лекарственных препаратов, благодаря своей уникальной возможности к инкапсулированию различных гидрофобных соединений (образование соединений включения типа «гость-хозяин») [8,11]. Инкапсулирование защищает включенное лекарственное вещество от биоразложения, способствует повышению его растворимости и содействует его избирательной доставке в необходимое место за требуемый период времени [9,10,12]. В предыдущих наших работах показана высокая физиологическая и фармакологическая активность подобных соединений, в частности конъюгатов и клатратов

$\beta$ -циклодекстрина с ацетилсалициловой кислотой, ибупрофеном, ПАБК на предмет их противовоспалительной, актопротекторной и других видов физиологической активности [1]. В связи с этим представляет определенный интерес изучение данных веществ на других биологических моделях.

**Целью** настоящего исследования явилось изучение элементного содержания в плазме крови кальция и фосфора у лабораторных животных под влиянием трех новых синтезированных соединений  $\beta$ -циклодекстрина с ПАБК в сравнении непосредственно с ПАБК.

**Материалы и методы исследования.** В эксперименте были использованы следующие новые синтезированные соединения (рисунок): клатрат силильного производного  $\beta$ -циклодекстрина (II) с ПАБК (соединение III), представляющий собой соединение включения в соотношении «гость-хозяин» 1:1; конъюгат  $\beta$ -циклодекстрина (I), содержащий ковалентно присоединенную ПАБК через карбоксильную группу со степенью замещения гидроксильных групп в  $\beta$ -циклодекстрине, равной 1 (соединение IV); конъюгат  $\beta$ -циклодекстрина I, содержащий два остатка ковалентно присоединенной ПАБК через аминогруппу (соединение V). В данном соединении в молекуле  $\beta$ -циклодекстрина несколько гидроксильных групп замещены на бромидные, степень замещения 2, и оно представляет собой катионное (вторичное аммониевое) производное  $\beta$ -циклодекстрина.

Органические соединения I и II являются предшественниками по этапам органического синтеза для изучаемых

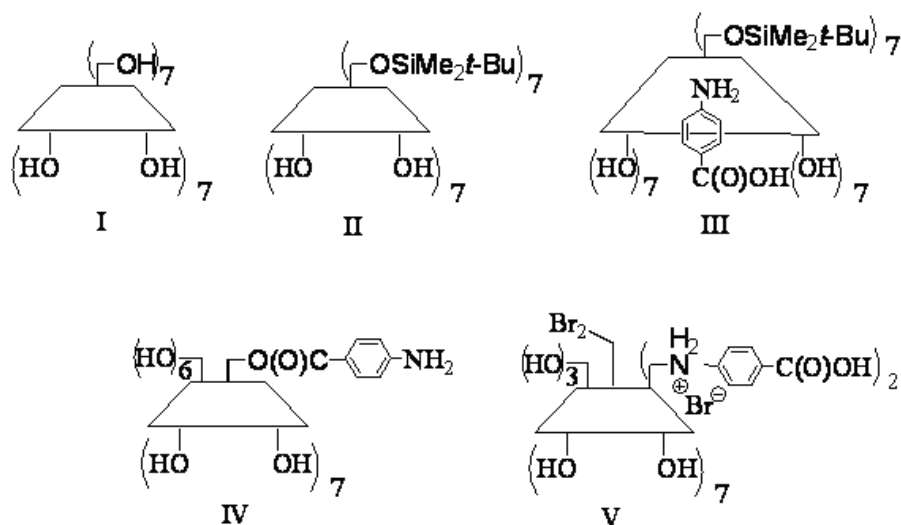
нами соединений III, IV, V. Использование I и II в эксперименте доказывает, что их физиологическая активность проявляется в большей степени за счет конъюгирования или включения ПАБК.

Эксперимент проведен на 48 белых беспородных крысах-самцах. Животных содержали в стандартных условиях вивария в клетках по 4-5 особей, при естественном освещении и свободном доступе к воде и пище. В работе соблюдались принципы Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным. В эксперименте все особи были разделены на пять групп: интактная (n=8), получающая плацебо; контрольная группа (n=8), получавшая ПАБК (10 мг/кг); подопытная группа (n=6), получавшая соединение III (150 мг/кг); подопытная группа (n=8), получавшая соединение IV (100 мг/кг); подопытная группа (n=8), получавшая соединение V (60 мг/кг). Для определения содержания кальция и фосфора в плазме использовали комплексонометрический метод.

Все исследуемые вещества вводились перорально за 3 часа до начала эксперимента. Исследование проводилось в течение 3 дней.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы «Biostat» [2] по методам вариационной статистики с оценкой статистической значимости показателей и различий рассматриваемых выборок по t-критерию Стьюдента. Различия в сравниваемых группах считали достоверными при уровне значимости 95 % (p<0,05). Предварительно было произведено определение нормальности распределения исследуемого признака в сравниваемых группах, что дало основание к выбору данного критерия.

**Результаты и обсуждение.** Анализируя полученные результаты (таблица), необходимо отметить, что элементное содержание кальция в контрольной группе увеличилось в 1,08 раза с достоверно значимой разницей (p<0,05). Данные результаты согласуются с полученными выводами другой группы исследователей, изучавших кальциево-фосфорный обмен у экспериментальных животных в возрастной динамике под влиянием ПАБК [3]. При применении синтезированного соединения III содержание кальция в плазме возросло в 1,05 раза в сравнительном аспекте с результатом интактной группы (без достоверной разницы, p>0,05). Наиболее максимальное отличие между количественным содержани-



Формулы используемых соединений (III, IV, V) и предшественников их органического синтеза (I, II)

### Содержание элементов фосфора и кальция в плазме под влиянием производных $\beta$ -циклодекстрина у лабораторных животных

| Элемент            | Группа              |                |                |                |                |
|--------------------|---------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                    | Опытные, получившие |                |                |                |                |
|                    | соединение III      |                |                |                |                |
| Кальций, мг/100 мл | 9,6 $\pm$ 0,2       | 10,4 $\pm$ 0,4 | 10,1 $\pm$ 0,8 | 11,8 $\pm$ 0,3 | 9,9 $\pm$ 0,8  |
| Фосфор, мкг/мл     | 18,3 $\pm$ 0,9      | 20,9 $\pm$ 1,4 | 21,1 $\pm$ 1,2 | 22,2 $\pm$ 1,6 | 19,1 $\pm$ 1,2 |

ем кальция отмечалось в подопытной группе, получавшей производное IV, где количество определяемого элемента увеличилось в 1,23 и в 1,13 раза по сравнению с интактной и контрольной группами соответственно. В экспериментальной выборке животных, получавших соединение V, практически не обнаруживалось разницы данного показателя с аналогичным в группах сравнения.

Определяемое элементное содержание фосфора во всех подопытных группах имело тенденцию к увеличению, хотя при этом достоверно значимой разницы нигде не обнаруживалось. В подопытной группе лабораторных животных, получавших соединение IV, отмечалось максимальное увеличение количественного содержания фосфора (в 1,2 раза).

Из полученных данных видно, что наиболее оптимальное изменение элементного состава кальция и фосфора фиксируется у экспериментальных животных, получавших соединение IV. Наблюдаемое явление, вероятнее всего, можно связать с особенностью строения этого синтезированного комплекса. Несмотря на отсутствие в некоторых вышеуказанных результатах достоверно значимой разницы с группами сравнения, наличие тенденции к увеличению элементного содержания кальция и фосфора (при введении всех новых соединений) может оказывать весомое влияние на кальциево-фосфорный гомеостаз организма. Кальций выступает активатором многих ферментных процессов, участвуя в механизме регуляции клеточного обмена и возбудимости живых структур, влияет на сердечную деятельность, играет важную роль в процессах свертывания крови и т.д. Фосфор является одним из важных компонентов макроэнергетических фосфатов, фосфорилированных сахаров, входит в состав фосфолипидов, образуя клеточные мембраны, а также в состав нуклеиновых кислот, тем самым имея непосредственное отношение к геному

человека [5]. В связи с этим даже незначительное увеличение данных элементов в конечном итоге может оказать положительный физиологический эффект в организме.

Выполненная экспериментальная работа дает предпосылки к дальнейшему более глубокому изучению биологической активности у данных новых (и подобных) комплексных соединений, отражая начальный апробационный этап их комплексного исследования.

1. Экспериментально установлено положительное влияние производных  $\beta$ -циклодекстрина на элементное содержание кальция и фосфора в плазме.

2. Наиболее позитивные результаты установлены у нового соединения, являющегося конъюгатом  $\beta$ -циклодекстрина, содержащего ковалентно присоединенную через карбоксильную группу парааминобензойную кислоту со степенью замещения гидроксильных групп в  $\beta$ -циклодекстрине, равной 1.

3. Увеличивающаяся физиологическую активность парааминобензойной кислоты в нашем случае в отношении элементного обмена можно связать с положительным воздействием  $\beta$ -циклодекстрина на процесс перераспределения новых соединений в организме.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 08-03-00374).*

### Литература

1. Баталова Т.А. Противовоспалительная активность нового синтетического соединения из  $\beta$ -циклодекстрина и ацетилсалициловой кислоты / Т.А. Баталова, В.А. Доровских, М.Л. Пластинин // Дальн. мед. журнал. – 2008. – № 2. – С. 105-107
2. Batalova T.A. Anti-inflammatory activity of new synthetic connection of  $\beta$ -cyclodextrin and acetylsalicylic acids / T.A. Batalova, V.A. Dorovskih, M.L. Platinin // Far East Medical Journal. – 2008. – № 2. – P. 105-107.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М.: «Практика», 1999. – 459 с.
- Glants S. Medico-biological statistics / S. Glants. – M.: "Praktika", 1999. – 459 p.
3. Карпушина О.В. Возрастная динамика

кальциево-фосфорного обмена и естественной резистентности при применении парааминобензойной кислоты в условиях Приамурья: автореф. дисс. ... канд. биол. наук / О.В. Карпушина. – Благовещенск, 2004. – 22 с.

Karpushina O.V. Age dynamics of a calcium-phosphorus exchange and natural resistance at application of paraaminobenzoic acid in conditions of Priamurie: autoref. diss. ... cand. biol. sci. / O.V. Karpushina. – Blagoveshchensk, 2004. – 22 p.

4. Лепорский Н.И. К анализу общего действия новокаина / Н.И. Лепорский, Т.Т. Каракулина // Труды Военно-морской акад. – 1952. – Т. 39. – С. 50-51.

Leporsky N.I. To the analysis of the Novocain general action / N.I. Leporsky, T.T. Karakulina // Works of Naval. Acad. – 1952. – V. 39. – P. 50-51.

5. Некоторые аспекты регуляции фосфорно-кальциевого обмена: роль почек / О.В. Чумакова, Н.Н. Картамышева, Г.В. Кузнецова [и др.] // Медицинский научный и учебно-методический журнал. – 2002. – № 11. – С. 157-173.

Some aspects of phosphor-calcium metabolism regulation: a role of kidneys / O.V. Chumakova, N.N. Kartamyшева, G.V. Kuznetsova [et al.] // Medical scientific and teaching-methods journal. – 2002. – № 11. – P. 157-173.

6. Парааминобензойная кислота / под ред. М.И. Смирнова. – М., 1974. – 460 с.

Paraaminobenzoic acid / under ed. of M.I. Smirnov. – M.: 1974. – 460 p.

7. Строева О.Г. Эндогенные соединения в морфогенезе и восстановительных процессах – интегрирующие и регуляторные системы: теория и практика / О.Г. Строева // Биологические свойства парааминобензойной кислоты. – 2000. – Т. 31, № 4. – С. 259-260.

Stroeva O.G. Endogen connections in morphogenesis and regenerative processes – integrating and regulatory systems: the theory and practice / O.G. Stroeva // Biological properties of paraaminobenzoic acid. 2000. – V. 31, № 4. – P. 259-260.

8. Davis M.E. Cyclodextrin-based pharmaceuticals: Past, Present and Future / M.E. Davis, M.E. Brewster // Natural Rev. Drug Discovery. – 2004. – V.3. – P. 1023-1035.

9. Minami K. Colon-specific drug delivery based in a cyclodextrin prodrug release behavior of biphenylacetic acid from its cyclodextrin conjugates in rat intestinal tracts after oral administration / K. Minami, F. Hirayama, Uekama // J. Pharm. Sci. – 1998. – V.87, № 6. – P. 715-720.

10. Uekama K. 6a-O-[(4-Biphenyl)acetyl] –  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ -cyclodextrins and 6a-deoxy – 6a-[[4-biphenyl]acetyl]amino]- $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -cyclodextrins: potential prodrugs for colon-specific delivery / K. Uekama, K. Minami, F. Hirayama // J. Med. Chem. – 1997. – V.40, № 17. – P. 2755-2761.

11. Uekama K. Cyclodextrin drug carrier systems / K. Uekama, F. Hirayama, T. Irie // Chem. Rev. – 1998. – V. 98, N5. – P. 2045-2076.

12. Yano H. Colon-specific delivery of prednisolone-appended  $\alpha$ -cyclodextrin conjugate: alleviation of systemic side effect after oral administration / H. Yano, F. Hirayama, M. Kamada // J. Cont. Rel. – 2002. – V.79, № 3. – P.103-112.

13. Yung-Jato L.L. Liquid chromatographic measurement of p-aminobenzoic acid and its metabolites in serum / L.L. Yung-Jato, P.R. Durie, S.J. Soldin // Clin. Chem. 1998. – V. 11, № 34. – P. 2235-2238.