

УДК 615.282.012:582.288

С.О. Старовойтова<sup>1</sup>, Л.Б. Орябінська<sup>2</sup>, В.І. Лубенець<sup>3</sup><sup>1</sup>Національний університет харчових технологій, Київ, Україна<sup>2</sup>Національний технічний університет України "КПІ", Київ, Україна<sup>3</sup>Національний університет "Львівська політехніка", Львів, Україна

## СПЕКТР АНТИМІКРОБНОЇ ДІЇ ПРОТИГРИБКОВОГО ПРЕПАРАТУ ЕСУЛАН

**Background.** The first half of the XXI century was characterized by increasing in the incidence of fungal infections. A wide range of spatial spread of fungal infections, including dermatophytes and vaginal candidiasis (thrush), which can be explained by intensive migration and changing lifestyles in industrialized countries. This growth was not stopped after the introduction of new antifungal pharmaceuticals, most of which have side effects and are characterized by significant toxicity. In this regard, remains perspective development of new effective non-toxic natural antifungal drugs.

**Objective.** Research some potential mechanisms of domestic antimycotic Esulanum such as spectrum antimicrobial activity against gram-positive, gram-negative bacteria, microscopic fungi and yeast; influence on morphological characteristics and enzymatic activity of yeast.

**Methods.** The study of antimicrobial activities was performed by preparation of serial dilutions. Study of the dynamics of cell death under the influence of Esulanum performed on models of culture *Candida tropicalis*. Cell morphology was studied using a light microscope.

**Results.** It was shown that the Esulan have a broad-spectrum activity against gram-positive and gram-negative bacteria, yeasts and fungi. Minimum inhibitory concentration of Esulan against yeast (250–500 ug/ml), fungi (62,5–500 ug/ml) gram-positive (31,2–250 ug/ml) and gram-negative (62,5–250 ug/ml) bacteria was established. The study of morphological characters of *Candida tropicalis* cells showed that the introduction of Esulanum into the culture medium in the fungicidal concentration led to changes in the morphogenesis of yeast cells, the degree of manifestation of which was due to a temporary effect. The appearance under the influence of the drug bumps and tears on the surface of yeast cells, as well as change their shape was probably due to a breach of the normal metabolism of culture, which was confirmed by experimental data.

**Conclusions.** The results indicate that Esulanum is broad-spectrum drug, active not only in relation to micromycetes and yeast cultures, but also Gram-positive and Gram-negative bacteria. Found that Esulanum affects the metabolic processes of the fungal cells. During the preclinical studies further research should be aimed at the study of the mechanism of action of the drug on cells of fungal cultures.

**Keywords:** antifungal drug; Esulanum; mechanism of action; yeast.

### Вступ

Мікози – поширені захворювання, що вражають пацієнтів різних вікових груп – від немовлят до осіб похилого віку. За даними ВООЗ, кожен п'ятий житель нашої планети страждає на грибкові захворювання, серед яких лідирують мікози стоп і кистей з ураженням нігтьових пластинок.

Осередок тривалої грибкової інфекції викликає: виражену сенсибілізацію організму; розвиток алергічних реакцій; хронізацію захворювань шкіри; приєднання бактеріальних інфекцій. Основними збудниками грибкових захворювань шкіри та її придатків є дерматофіти (близько 85 % випадків), які викликають алергізацію організму антигенами міцелію і токсинами [1–5].

Сьогодні арсенал місцевих протигрибкових засобів дуже різноманітний. Фармацевтичний ринок України налічує близько 150 найме-

нувань препаратів для лікування грибкових інфекцій. Серед них близько 90 % є генеричними лікарськими засобами. Лікарські субстанції, що входять до їх складу, належать до різних хімічних класів і поколінь. Вони випускаються під різними комерційними назвами і нерідко у вигляді декількох лікарських форм (ЛФ): мазі, крему, спрею, лосьйону тощо. У разі вибору тієї чи іншої ЛФ місцевих засобів важливе значення відіграє локалізація процесу та вираженість запальної реакції. Різняться протигрибкові місцеві препарати і за ефективністю [3, 6].

Більшість протигрибкових препаратів мають побічну дію, та деякі характеризуються значною токсичністю. Тривалість терапії грибкових інфекцій іноді досягає 3–4 тижнів, що створює додаткові незручності для пацієнта, порушується графік застосування препарату і, як наслідок, – низька ефективність лікування. При місцевій терапії мікозів шкіри слід враховувати і той факт, що до грибкового ураження приєд-

нується бактеріальна флора, яка значно знижує ефективність лікування.

Таким чином, препарат для ефективної місцевої терапії мікозів повинен характеризуватися такими властивостями:

- первинною фунгіцидною дією;
- широким спектром антимікотичної активності діючої речовини;
- додатковим антибактеріальним і проти-запальним ефектом;
- мінімальної кратністю застосування та коротким курсом терапії;
- різноманітністю ЛФ для однієї діючої речовини.

На сьогодні ці критерії є оптимальними для вибору антимікотика з позиції сучасної фармакотерапії мікозів. У зв'язку з цим перспективним залишається розроблення нових ефективних нетоксичних природних антимікотиків [1–6]. Такими препаратами можуть стати лікарські засоби на основі тіосульфокислот та їх естерів, які є структурними аналогами природних фітонцидів, наприклад часнику (*Allium sativum*), цибулі (*Allium cepa*), глибоководної морської водорості *Echinocardium cordatum*. Лікувальні властивості часнику і цибулі відомі з давніх часів. Сучасна медицина розглядає лікування препаратами з цих рослин як перспективний напрям терапії атеросклерозу, коронарного тромбозу, астми і мікробних інфекцій. Відомо, що синтетичні естери тіосульфокислот також проявляють широкий спектр біологічної активності, що часто перевищує ефективність природних аналогів. Немало з них запропоновано як лікарські засоби, консерванти фруктів та овочів, ефективні засоби захисту рослин, рістрегулятори, біоцидні домішки, інсектициди, радіопротектори. Естери тіосульфокислот є ефективними сульфенілюючими реагентами в органічному синтезі, а також цінними об'єктами для розв'язання складних питань молекулярної біології та біохімії [7].

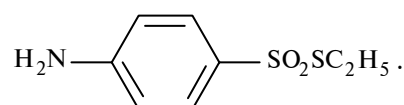
Так, у Національному університеті "Львівська політехніка" (м. Львів, Україна) спільно з науковцями Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького розроблено препарат Есулан – S-етилловий естер параамінобензолтіосульфанилової кислоти. Є дані про можливість використання водно-спиртового розчину Есулана при зберіганні овочів. Розчином оброблюються зовнішні поверхні овочів або внутрішні поверхні тари, в яку вони поміщаються [7].

## Постановка задачі

Метою роботи є дослідження спектра антимікробної активності оригінального вітчизняного препарату Есулан як перспективного антимікотика для медицини.

## Матеріали і методи

Об'єктом дослідження було вибрано Есулан – S-етил-4-аміно-бензентіосульфат:



Есулан – кристалічний порошок блідо-кремового кольору чи безбарвний, погано розчинний у гарячій воді, добре розчинний у спирті, ефірі, ацетоні та інших органічних розчинниках зі специфічним запахом [7, 8].

Як тест-культури використано низку бактеріальних культур, пліснявих та дріжджових грибів з музею культур кафедри промислової біотехнології факультету біотехнології і біотехніки НТУУ "КПІ".

Умови вирощування та живильні середовища варіювали залежно від використання того чи іншого виду мікроорганізмів, методу дослідження та від визначення того чи іншого показника.

Дріжджові гриби вирощували в термостаті за температури 37 °С на м'ясо-пептонному агарі (МПА) з додаванням 2 % глюкози. В усіх експериментах як посівний матеріал використовували дводобову культуру.

Бактеріальні культури вирощували в термостаті за температури 37 °С на МПА.

Культури пліснявих грибів вирощували в термостаті за температури 28 °С на середовищі Чапека з 2 % глюкози або 3 % сахарози протягом 5–7 діб.

Вивчення антибактеріальної активності препарату проводили методом серійних розведень у щільному живильному середовищі МПА. Мікробне навантаження посівної суспензії становило  $5 \times 10^5$  колонієутворювальних одиниць (КУО)/мл суспензії. Облік результатів проводили після 24–36 год інкубації в термостаті за температури 37 °С.

Вивчення антимікотичної активності препарату проводили методом серійних розведень у середовищі Чапека з 3 % сахарози або 2 %

глюкози. На поверхню чашки Петрі вносили суспензію спор грибів, концентрація яких становила  $2 \times 10^6$  мл. Облік результатів проводили на 5–7-му добу інкубації культур за температури 28 °С.

Вивчення динаміки загибелі клітин під впливом Есулану проводили в колбах із середовищем МПБ з 2 % глюкози та фунгіцидною концентрацією препарату, які засівали культурою *Candida tropicalis* (ОД – 0,08,  $\lambda$  – 540 нм, ширина кювети 1–0,5 см). Інкубацію проводили в термостаті за температури 37 °С протягом 6 год. Кожні 15 хв протягом першої години, а потім кожні 30 хв проводили висів 0,2 мл суспензії шпателем із колби на чашки Петрі з МПА та 2 % глюкози, які інкубували 48 год у термостаті за температури 37 °С. Після цього проводили облік результатів.

Паралельно з висівом суспензії на чашки Петрі проводили мікроскопічне дослідження культури *Candida tropicalis*. Клітини, профарбовані фуксином, мікроскопіювали на мікроскопі марки ЛОМО МИКМЕД-1 при збільшенні в 900 разів.

Морфологію клітин вивчали за допомогою світлового мікроскопа. Вимірювали довжину ( $l$ ) та ширину ( $d$ ) клітин. Розраховували коефіцієнт форми – відношення довжини до ширини. Наведено середні розміри з 25 вимірювань. Об'єм клітини ( $V$ ) та площу її поверхні ( $S$ ) розраховували з використанням загальноприйнятих формул для циліндра з двома напівсферами.

Усі досліди проводили не менше трьох разів із використанням відповідних контролів. Статистичне опрацювання даних здійснювали з використанням програмного пакета для персональних комп'ютерів Microsoft Excel, достовірність змін встановлювали за  $t$ -критерієм Стьюдента. Різницю вважали достовірною при значенні  $P < 0,05$  [9].

### Результати і їх обговорення

Дослідження антимікробного спектра дії Есулану показало, що активність препарату до мікроміцетів проявлялась у концентраціях від 250 до 500 мкг/мл (табл. 1). Винятком стали культури *Aspergillus factidus* і *Acremonium chrysogenum*, для яких мінімальна пригнічувальна концентрація (МПК) була на 1–2 порядки нижча і становила 3,6 мкг/мл та 62,5 мкг/мл відповідно.

Як відомо, серед збудників шкірних та системних захворювань особливе місце посідають дріжджові гриби роду *Candida*. У зв'язку з цим досліджено спектр дії Есулану відносно най-

більш вірулентних представників цього роду: *Candida albicans*, *C. tropicalis* і *C. stellatooides*. З табл. 1 видно, що МПК Есулану для *C. albicans* і *C. tropicalis* становить 250 мкг/мл, для *C. stellatooides* – 500 мкг/мл.

Таблиця 1. Спектр антимікробної дії Есулану

Штам мікроорганізмів	МПК, мкг/мл
Плісняві гриби (мікроміцети)	
<i>Aspergillus terreus</i>	250
<i>Aspergillus factidus</i>	3,6
<i>Aspergillus niger</i>	500
<i>Aspergillus awamory</i>	250
<i>Penicillium canescens</i>	250
<i>Acremonium chrysogenum</i>	62,5
<i>Trichoderma viride</i>	250
<i>Trichoderma terricola</i>	500
Дріжджові гриби	
<i>Candida tropicalis</i>	250
<i>Candida albicans</i>	250
<i>Candida stellatooides</i>	500
Грампозитивні бактерії	
<i>Staphylococcus aureus</i>	62,5
<i>Staphylococcus citreus</i>	31,2
<i>Sarcina flava</i>	62,5
<i>Nocardia carollina</i>	125
<i>Micrococcus lysodeikticus</i>	125
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	62,5
<i>Bacillus circulans</i>	62,5
<i>Bacillus cereus</i>	250
<i>Bacillus mesentericus</i>	125
<i>Bacillus subtilis</i>	62,5
<i>Bacillus megaterium</i>	125
Грамнегативні бактерії	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	250
<i>Brevibacterium</i>	125
<i>Serratia marcescens</i>	62,5
<i>Acinetobacter colcoaceticus</i>	62,5
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	62,5
<i>Salmonella typhi</i> 100	125
<i>Salmonella typhi</i> 98	250
<i>Escherichia coli</i>	125

Вивчення антибактеріальної активності препарату дало змогу встановити, що він належить до речовин із широким спектром дії і пригнічує життєздатність як грампозитивних, так і грамнегативних бактерій. Як видно з табл. 1, антибактеріальна концентрація Есулану відносно досліджуваних культур бактерій становила 31,2–250 мкг/мл. Грампозитивні бактерії проявляли більшу чутливість до дії Есулану.

МПК препарату для більшості з них коливалась у межах 31,2–125,0 мкг/мл, у той час як МПК для *грамнегативних* бактерій становила 62,5–250 мкг/мл. Така залежність, вірогідно, пов'язана з різною будовою клітинної стінки грамнегативних та грампозитивних бактерій. Як відомо, більшість токсичних препаратів потрапляють у клітину унаслідок дифузії зі швидкістю, яка пропорційна градієнтам концентрації між зовнішнім і внутрішнім середовищем клітини і залежить від фізико-хімічної природи бар'єра. На відміну від  $\Gamma^+$  клітин, для яких бар'єром є тільки ЦПМ, бар'єром на шляху токсичних препаратів у  $\Gamma^-$  клітин є і зовнішня мембрана клітинної стінки [2].

Важливим показником активності препаратів є швидкість антимікробної дії. Незважаючи на широкий спектр антимікробної активності, в подальшій роботі як тест-культури для визначення характеру дії препарату використовували культуру дріжджеподібного гриба *Candida tropicalis*. Тому на другому етапі було проведено дослідження динаміки загибелі клітин *Candida tropicalis* під дією фунгіцидних концентрацій Есулану.

Як відомо, характер біологічної дії хіміотерапевтичних препаратів різноманітний і залежить насамперед від їх хімічної природи, концентрації препарату, виду організму та мікроструктури його клітин, умов прояву дії та інших факторів. Ефективність дії антимікробних речовин визначається ступенем зв'язування їх з клітинною оболонкою і швидкістю дифузії через цитоплазматичну мембрану. Остання залежить від розміру і просторової конфігурації, величини електричного заряду і гідрофільності молекули, що трансформується [3].

При вивченні динаміки загибелі клітин *Candida tropicalis* було зроблено спробу змодельювати процес якомога більш схожим на процеси, що відбуваються в організмі людини. Тому весь час інкубації клітин з препаратом відбувався за температури 37 °С (температура тіла людини). Концентрація клітин у суспензії була

$4 \times 10^5$  кл/мл, що відповідало кількості клітин, за якої визначалася активність препарату. Експериментально було встановлено, що концентрація препарату, яка приводила до загибелі всіх клітин, проявлялася при концентрації 250 мкг/мл.

Під час визначення динаміки загибелі клітин *Candida tropicalis* під впливом фунгіцидної концентрації Есулану (табл. 2) виявилось, що на тридцять хвилин експозиції Есулан вбиває лише 9,09 % клітин, у той час як через годину експозиції гине 98,48 % клітин. Повний терапевтичний ефект, тобто стовідсоткова загибель клітин *Candida tropicalis*, під дією фунгіцидної концентрації Есулану досягається на шосту годину експозиції.

Таблиця 2. Динаміка загибелі клітин *Candida tropicalis* під дією фунгіцидної концентрації Есулану (250мкг/мл)

Час експозиції, год	Відсоток клітин, що загинули
0	0
0,5	9,09
1	98,48
2	99,90
3	99,93
4	99,99
6	100

Паралельно з визначенням динаміки загибелі клітин було проведено мікроскопічне дослідження зміни морфології клітин під дією антимікотика. Так, на другу годину експозиції клітини *Candida tropicalis* значно зменшувались у розмірах та зморщувались. Траплялися поодинокі клітини з деформованою клітинною поверхнею та клітини з нечітко окресленим краєм.

На шосту годину експозиції культури *Candida tropicalis* з Есуланом клітини не змінюються в розмірах, але їх концентрація істотно зменшується, і в полі зору опиняється не більше двох-трьох клітин. Клітини до цього часу стовідсотково втрачають свою життєздатність.

Таблиця 3. Зміна розмірів клітин *Candida tropicalis* під впливом фунгіцидної концентрації Есулану

Зразок	Час експозиції, год	Розмір клітини ( $\pm 0,05$ ) і коефіцієнт її форми					
		Найменший		Найбільший		Середній	
		$l \times d$ , мкм	$l:d$ , мкм	$l \times d$ , мкм	$l:d$ , мкм	$l \times d$ , мкм	$l:d$ , мкм
Контроль	–	2,08×1,60	1,30	4,49×2,24	2,00	3,24×2,08	1,56
Есулан	2	1,60×0,80	2,00	2,56×1,60	1,60	1,98×1,12	1,77
	4	1,28×0,64	2,00	1,60×0,64	2,50	1,44×0,75	1,92

Примітка.  $l$  – довжина клітини, мкм;  $d$  – ширина клітини, мкм;  $l:d$  – коефіцієнт форми клітини.

Цитоморфологічний аналіз клітин *Candida tropicalis*, отриманих у результаті вирощування на середовищі з фунгіцидною концентрацією Есулану, продемонстрував яскраво виражений диморфізм, якого культура зазнає в перші години контакту з хіміотерапевтичним препаратом (табл. 3, 4). Статистично достовірне зменшення розмірів клітин в 1,07–1,73 разу порівняно з контролем, можливо, також має адаптаційний характер.

Таблиця 4. Зміна співвідношення середніх значень площі поверхні та об'єму клітин *Candida tropicalis* під впливом фунгіцидної концентрації Есулану

Зразок	Час експозиції, год	Об'єм (V), мкм <sup>3</sup>	Площа поверхні клітини (S), мкм <sup>2</sup>	Питома поверхня (S/V), мкм <sup>2</sup> /мкм <sup>3</sup> ± 0,05 мкм <sup>-1</sup>
Контроль	–	8,65	21,16	2,45
Есулан	3	1,58	6,96	4,41
	4	0,53	3,39	6,40

Таблиця 5. Ферментативна активність *Candida tropicalis*

Джерело вуглецевого й азотного живлення	Контроль						Есулан 125 мкг/мл					
	Концентрація джерел вуглецевого й азотного живлення, %											
	20			10			20			10		
	Доба дослідження											
	1	7	15	1	7	15	1	7	15	1	7	15
Джерело вуглецевого живлення												
Глюкоза	+	+	+	+	+	+	–	–	+	–	–	+
Маніт	+	+	+	+	+	+	–	–	+	–	–	+
Мальтоза	+	+	+	+	+	+	–	–	+	–	–	+
Лактоза	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Фруктоза	+	+	+	+	+	+	–	+	+	–	–	–
Сахароза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Сорбіт	+	+	+	+	+	+	–	+	+	–	–	–
Соєве борошно	+	+	+	+	+	+	–	+	+	–	+	+
Крохмаль картопляний	+	+	+	+	+	+	–	+	+	–	+	+
Целюлоза	–	–	–	–	–	–	+	+	+	±	±	±
Карбоксиметилцелюлоза	–	–	–	±	±	±	–	–	–	±	±	±
Галактоза	+	+	+	+	+	+	–	–	+	–	+	+
Лимонна кислота	+	+	+	+	+	+	–	+	+	±	±	±
Інозит	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ксилоза	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Джерело азотного живлення												
Нітрат калію	–	–	–	–	–	–	±	±	±	±	±	±
Нітрат амонію	–	–	–	–	–	–	–	–	–	±	±	±
Нітрат барію	+	+	+	+	+	+	–	+	+	–	+	+
Сульфат амонію	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Хлорид амонію	+	+	+	–	–	–	+	+	+	–	–	–
Нітрит натрію	–	–	–	+	+	+	–	–	–	–	+	+
Амоній лимоннокислий двозаміщений	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–
Кальцій азотнокислий чотириводний	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Амоній виннокислий	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–
Нітрат натрію	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Пептон	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–

Примітка. “–” – відсутність росту культури; “+” – ріст культури.

Відомо, що одноклітинні мікроорганізми мають значно більшу чутливість до зміни навколишніх умов, ніж багатоклітинні. Відомо, що велике відношення поверхні клітини до об'єму забезпечує високу швидкість протікання метаболічних процесів і швидку реакцію мікроорганізмів на зміну хімічного складу середовища [1]. Експериментально показано достовірне збільшення питомої поверхні клітин *Candida tropicalis* під впливом фунгіцидної концентрації Есулану в 1,96 разу на третю годину експозиції та 3,95 на четверту, що, вірогідно, має пристосувальний характер у відповідь на агресивні умови середовища.

Дослідження культуральних особливостей *Candida tropicalis*, вирощеної за наявності токсичних концентрацій Есулану, встановило перехід культури з S-форми, що дає білі, м'якої, сметаноподібної консистенції колонії, у R-форму, що росте у вигляді жовтуватих, дрібнозернистих, ажурних колоній. За літературними даними, цей перехід зумовлено мутаціями у генах, які регулюють метаболізм відповідно до зовнішніх умов [10]. Це підтвердилось експериментальними даними: виявлено, що наявність суббактерицидних (125 мкг/мл) концентрацій антимікотика в живильному середовищі змінювала ферментативну активність дріжджів. Як видно з табл. 5, що хоча клітини дріжджів і продовжували метаболізувати звичайний для них спектр речовин, але здійснювали затримку в строках асиміляції деяких із них до 10–15 діб (замість 24–48 год у вихідної культури). Разом із цим під дією антимікотика дріжджі набували здатності утилізувати целюлозу та втрачали

здатність використовувати як джерело азотного живлення пептон і амоній лимоннокислий дво-заміщений. Отримані дані щодо змін у катаболізмі вуглеводів та утилізації джерел азотного живлення свідчать про вплив Есулану на метаболічні процеси клітин дріжджів.

### Висновки

Отримані результати свідчать, що Есулан є препаратом широкого спектра дії, активним не лише відносно мікроміцетів та дріжджових культур, але і відносно грампозитивних та грамнегативних бактерій. Проведені дослідження показали, що внесення Есулану в живильне середовище у фунгіцидній концентрації призводило до зміни морфогенезу клітин дріжджів, ступінь прояву якого була обумовлена часовим ефектом. Поява під впливом препарату опуклостей та розривів на поверхні клітин дріжджів, а також зміна їх форми, вірогідно, були наслідком порушення нормального обміну речовин культури. Про вплив Есулану на метаболічні процеси *Candida tropicalis* свідчать і отримані дані щодо зміни динаміки катаболізму вуглеводів та утилізації джерел азотного живлення клітинами дріжджів під впливом суббактеріостатичних концентрацій антимікотика. Під дією антимікотика дріжджі набували здатності утилізувати целюлозу та втрачали здатність використовувати пептон і амоній лимоннокислий.

При проведенні доклінічних досліджень подальша дослідницька робота повинна бути спрямована на вивчення механізму дії препарату на клітини грибних культур.

### Список літератури

1. *Егорев Н.С.* Основы учения об антибиотиках. – М.: Наука-МГУ, 2004. – 528 с.
2. *Levine B.J.* EMRA Antibiotic Guide. – 15 ed. – England: Emergency Medicine Residents Association, 2012 –128 p.
3. *Sinha B.A.* Antibiotic Essentials. – 12 ed. – England: Jones and Barlett Learning, 2013. – 778 p.
4. *Тец В.В.* Микроорганизмы и антибиотики. – СПб: Кле-Т, 2005. –164 с.
5. *Водорозчинні полімерні аддукти есулану з бактерицидними та антигрибковими властивостями / О.В. Федорова, Н.Є. Мітіна, Н.Л. Заярнюк та ін. // Хімія, технологія речовин та їх застосування. – 2004. – № 516. – С. 63–65.*
6. *Компендиум 2013 – лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко. – К.: Морион, 2013. – 1408 с.*
7. *Лубенець В.І.* Хімія похідних тіосульфокислот: Автореф. дис. ... док. хім. наук. – Львів, 2006. – 20 с.
8. *Вплив похідних тіосульфокислот на транспортні системи зародків холоднокровних / О.С. Яремкевич, М.В. Бура, С.М. Мандзинець та ін. // Фізика живого. – 2012. – 19, №1. – С. 70–77.*
9. *Бейли Н.* Статистические методы в биологии. – М.: Изд-во иностранной лит-ры, 1962. – 260 с.
10. *Егоренкова А.Н.* Об изменчивости дрожжеподобных грибов рода *Candida* под влиянием натриевой соли леворина // Антибиотики. – 1967. – № 3. – С. 430–432.



## References

1. N.S. Egorov, *Foundations of Theory of Antibiotics*. Moscow, Russia: Nauka-MGU, 2004, 528 p. (in Russian)
2. B.J. Levine, *EMRA Antibiotic Guide*, 15 ed. England: Emergency Medicine Residents Association, 2012, 128 p.
3. B.A. Cunha, *Antibiotic Essentials*, 12 ed. England: Jones and Barlett Learning, 2013, 778 p.
4. V.V. Tets, *Microorganisms and Antibiotics*. Sankt-Peterburg, Russia: Kle-T, 2005, 164 p. (in Russian)
5. O.V. Fedorova *et al.*, "Water-soluble polymer adducts of Esulanum with antibacterial properties and antifungal", *Khimiya, tekhnolohiya rechovyn ta yikh zastosuvannya*, no. 516, pp. 63–65, 2004 (in Ukrainian).
6. *Compendium 2013 – Pharmaceutical Preparations*, V.N. Kovalenko, Ed. Kyiv, Ukraine: Morion, 2013, 1408 p. (in Russian).
7. V.I. Lubenets', "Chemical thiosulfonic acid derivatives", Sc.D. synopsis, National University "Lviv Polytechnic", Lviv, 2006, 20 p. (in Ukrainian)
8. O.S. Yaremkevych *et al.*, "The impact of thiosulfonic acid derivatives on transport systems embryos cold-blooded", *Fizyka zhyvoho*, vol. 19, no. 1, 2012, pp. 70–77 (in Ukrainian)
9. N. Beyli, *Statistical Methods in Biology*. Moscow, Russia: Izdatel'stvo inostrannoy literatury, 1962, 260 p. (in Russian).
10. A.N. Yegorenkova, "The variability of yeast fungi of the genus *Candida* under the influence of sodium levorin", *Antibiotiki*, no. 3, 1967, pp. 430–432 (in Russian).

C.O. Старовойтова, Л.Б. Орябинська, В.І. Лубенець

### СПЕКТР АНТИМІКРОБНОЇ ДІЇ ПРОТИГРИБКОВОГО ПРЕПАРАТУ ЕСУЛАН

**Проблематика.** Перша половина XXI ст. характеризувалася помітним зростанням захворюваності на мікози. Значного територіального поширення набула низка грибкових інфекцій, зокрема дерматофітії та вагінальний кандидоз (молочниця), що можна пояснити інтенсивною міграцією населення та зміною способу життя в індустріальних країнах. Це зростання не вдалося зупинити і після впровадження новітніх антимікотичних засобів, більшість із яких мають побічну дію та характеризуються значною токсичністю. У зв'язку з цим перспективним залишається розроблення нових ефективних і нетоксичних природних антимікотиків.

**Мета дослідження.** Дослідження деяких потенційних механізмів дії вітчизняного антимікотика Есулан, а саме спектра антимікробної активності відносно грампозитивних, грамнегативних бактерій, мікроскопічних грибів та дріжджів; вплив на морфологічні ознаки та ферментативну активність дріжджів.

**Методика реалізації.** Вивчення антимікробної активності препарату проводили методом серійних розведень. Вивчення динаміки загибелі клітин під впливом Есулану проводили на моделі культури *Candida tropicalis*. Зміни морфології клітин вивчали за допомогою світлового мікроскопа.

**Результати дослідження.** Показано, що Есулан є препаратом широкого спектра дії, активним проти грампозитивних та грамнегативних бактерій, дріжджів та пліснявих грибів. Встановлено мінімальні пригнічувальні концентрації препарату відносно дріжджів (250–500 мкг/мл), грибів (62,5–500 мкг/мл), грампозитивних (31,2–250 мкг/мл) та грамнегативних (62,5–250 мкг/мл) бактерій. Дослідження морфологічних ознак клітин *Candida tropicalis* показали, що внесення Есулану в живильне середовище у фунгіцидній концентрації призводило до зміни морфогенезу клітин дріжджів, ступінь прояву якого була **обумовлена часовим ефектом**. Поява під впливом препарату опуклостей та розривів на поверхні клітин дріжджів, а також зміна їх форми, вірогідно, були наслідком порушення нормального обміну речовин культури, що підтвердилось експериментальними даними.

**Висновки.** Отримані результати свідчать, що Есулан є препаратом широкого спектра дії, активним не лише відносно мікроміцетів та дріжджових культур, але й відносно грампозитивних і грамнегативних бактерій. Встановлено, що Есулан впливає на метаболічні процеси грибкової клітини.

**Ключові слова:** протигрибковий препарат; Есулан; механізм дії; дріжджі.

C.A. Старовойтова, Л.Б. Орябинская, В.И. Лубенец

### СПЕКТР АНТИМІКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВОГРИБКОВОГО ПРЕПАРАТА ЭСУЛАН

**Проблематика.** Первая половина XXI века характеризовалась заметным ростом заболеваемости микозами. Широкое территориальное распространение получил ряд грибковых инфекций, в том числе дерматофитий и вагинальный кандидоз (молочница), что можно объяснить интенсивной миграцией населения и изменением образа жизни в индустриальных странах. Этот рост не удалось остановить и после внедрения новейших антимикотических средств, большинство из которых имеют побочное действие и характеризуются значительной токсичностью. В связи с этим перспективной остается разработка новых эффективных и нетоксичных природных антимикотиков.

**Цель исследования.** Исследование некоторых потенциальных механизмов действия отечественного антимикотика Эсулана, а именно спектра антимикробной активности в отношении грамположительных, грамотрицательных бактерий, микроскопических грибов и дрожжей; влияние на морфологические признаки и ферментативную активность дрожжей.

**Методика реализации.** Изучение антимикробной активности препарата проводили методом серийных разведений. Изучение динамики гибели клеток под влиянием Эсулана проводили на модели культуры *Candida tropicalis*. Изменения в морфологии клеток изучали с помощью светового микроскопа.

**Результаты исследования.** Показано, что Эсулан является препаратом широкого спектра действия, активным относительно грамположительных и грамотрицательных бактерий, дрожжей и плесневых грибов. Установлены минимальные подавляющие концентрации препарата относительно дрожжей (250–500 мкг/мл), грибов (62,5–500 мкг/мл), грамположительных

(31,2–250 мкг/мл) и грамотрицательных (62,5–250 мкг/мл) бактерий. Исследования морфологических признаков клеток *Candida tropicalis* показали, что внесение Эсулана в питательную среду в фунгицидной концентрации приводило к изменению морфогенеза клеток дрожжей, степень проявления которого была обусловлена временным **эффектом**. Появление под влиянием препарата выпуклостей и разрывов на поверхности клеток дрожжей, а также изменение их формы, вероятно, были следствием нарушения нормального обмена веществ культуры, что подтвердилось экспериментальными данными.

**Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют, что Эсулан является препаратом широкого спектра действия, активным не только по отношению к микромицетам и дрожжевым культурам, но и к грамположительным и грамотрицательным бактериям. Установлено, что Эсулан влияет на метаболические процессы грибной клетки. При проведении доклинических исследований дальнейшая исследовательская работа должна быть направлена на изучение механизма действия препарата на клетки грибных культур.

**Ключевые слова:** противогрибковый препарат; Эсулан; механизм действия; дрожжи.

Рекомендована Радою  
факультету біотехнології і біотехніки  
НТУУ "КПІ"

Надійшла до редакції  
30 грудня 2014 року