

УДК 577.115.7:579.842.1/2

Л.Б. Скоклюк¹, Л.Д. Варбанець¹, І.І. Сейфулліна², Н.В. Шматкова²

¹Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ МСП Д03680, Україна

²Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65029, Україна

БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ НАТИВНИХ ТА МОДИФІКОВАНИХ ЛІПОПОЛІСАХАРИДІВ *RAHNELLA AQUATILIS*

Результати порівняльних досліджень токсичності нативного і модифікованих комплексними сполуками олова ліпополісахариду (ЛПС) *Rahnella aquatilis* 96U037 свідчать, що внаслідок модифікації ЛПС комплексом олова з бензоїлгідразоном 4-диметиламінобензальдегіду спостерігається зниження його токсичності та втрата пірогенного ефекту. Всі отримані похідні ЛПС повністю втрачали антигенну активність як в гомологічних, так і в гетерологічних системах, що може свідчити про взаємодію модифікуючих комплексів із певними групами, що входять до складу антигенної детермінанти.

Ключові слова: *Rahnella aquatilis*, ліпополісахарид, комплексні сполуки олова, токсичність, пірогенність.

У процесі життєдіяльності бактеріальні клітини активно взаємодіють із навколишнім середовищем на рівні макромолекул та компонентів, що розташовані на їх поверхні. Одним із таких специфічних компонентів зовнішньої мембрани грамнегативних бактерій є ліпополісахариди (ЛПС), які займають біля 45 % її поверхні і представляють собою амфільну молекулу, що містить гідрофобну ліпідну складову (ліпід А) та ковалентно зв'язану з нею гідрофільну полісахаридну частину (О-специфічний полісахарид та олігосахарид кору) [13, 15].

Серед широкого спектру біологічної активності ЛПС особливу увагу привертають їх токсичність та пірогенність. Саме ці властивості ЛПС перешкоджають широкому застосуванню даних біополімерів у медичній практиці як терапевтичних засобів. Одним із шляхів зміни біологічної активності ЛПС, зокрема зниження таких ендотоксичних властивостей як токсичність і пірогенність, є їх хімічна модифікація.

Перспективним напрямком модифікації ЛПС є застосування комплексних сполук металів із гідрозонами різноманітних альдегідів. Дані сполуки містять чисельні реакційні групи, які при взаємодії з ЛПС можуть змінювати рівень токсичності останніх. Ще однією позитивною характеристикою даних комплексів є їх низька токсичність, що є необхідною передумовою для модифікації [6].

Тому метою даної роботи було одержання хімічно модифікованих ЛПС та вивчення їх біологічної активності.

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження був ЛПС штаму *Rahnella aquatilis* 96U037 (ЛПС-37), виділений з води відкритих водойм.

Культуру вирощували на синтетичному рідкому середовищі N [14], в умовах орбітального шейкера (220 об/хв) при температурі 28 °С, протягом 24-х год. Виділення та очистку ліпополісахаридів проводили, як описано [3].

Антисироватки до грітих (100 °С, 2,5 год) клітин *R. aquatilis* 96U035, 96U036 та 96U037 отримували з крові імунізованих кролів. Імунізацію проводили шляхом п'ятиразового внутрішньовенного введення кролям розчинів зі зростаючими концентраціями (від 1×10^7 до 16×10^8) клітин *R. aquatilis* з інтервалами між ін'єкціями 7 діб. Забір крові проводили на 7 добу після останньої імунізації. Антигенну активність ЛПС досліджували подвійною імунодифузією в агарі за методом Оухтерлоні [12].

Пірогенну дію ЛПС вивчали на кролях вагою 2,0-3,5 кг [3]. Термометрію проводили за допомогою електронного термометра ("Omron Matsusaka Co. Ltd", Японія), який вводили в © Л.Б. Скоклюк, Л.Д. Варбанець, І.І. Сейфулліна, Н.В. Шматкова, 2011

пряму кишку на глибину 5-7 см (залежно від ваги кроля). Попередньо всіх кролів випробували на імунореактивність шляхом внутрішньовенного введення 10 мл/кг 0,9 %-вого стерильного непірогенного розчину хлориду натрію. Досліджувані препарати ЛПС розчиняли в стерильному непірогенному ізотонічному розчині, витримували протягом 10 хв при 37 °С, після чого внутрішньовенно вводили з розрахунку 1 мл/кг ваги тварини. Мінімальну пірогенну дозу препаратів ЛПС визначали в серії розведень від 0,5 до $1,0 \times 10^{-2}$ мг/мл. Кожну серію досліджуваних розчинів перевіряли на 3-х кролях, близьких за вагою (різниця не більш ніж 0,5 кг). Перед введенням розчину ЛПС у кролів двічі вимірювали температуру з інтервалом 30 хв. Оскільки різниця в показниках температури не повинна перевищувати 0,2 °С, тварин, що не відповідали цьому показнику, в дослідах не використовували. Результат останнього вимірювання приймали за вихідну температуру. Розчин ЛПС вводили не пізніше 15-20 хв після останнього вимірювання. Наступні вимірювання проводили після введення препарату тричі з проміжками в 1 год. Досліджуваний розчин ЛПС вважали непірогенним, якщо сума підвищених температур у 3-х кролів була меншою або дорівнювала 1,4 °С. Експеримент проводили в трьох повторностях.

Визначення токсичності ЛПС проводили на здорових білих мишах вагою 19-21 г обох статей, раніше не задіяних в будь-яких дослідженнях. Всім мишам вводили внутрішньочеревинно 0,5 мл 3,2 %-вого розчину D-галактозамінгідрохлориду в непірогенному стерильному розчині 0,9 %-вого NaCl. Після чого негайно вводили внутрішньочеревинно 0,2 мл підігрітого до 37°C ЛПС в ізотонічному стерильному непірогенному фізіологічному розчині зі швидкістю 0,1 мл/сек. В серії розведень ЛПС визначали дозу препарату, що викликала загибель 50 % дослідних тварин (LD_{50}), яку використовували для оцінки токсичності ЛПС. Кожну серію розведень препарату ЛПС випробували на десяти мишах. Контрольній групі (10 мишей) вводили разом із D-галактозамінгідрохлоридом 0,2 мл стерильного розчину 0,9 %-вого NaCl. Спостереження за тваринами проводили протягом 48 год [3].

Ароїлгідразони отримано реакцією конденсації гідразидів бензойної, 2-гідроксибензойної кислот із відповідними альдегідами [5]. Комплекси олова складу (I-IV) вперше синтезовано на кафедрі загальної хімії та полімерів Одеського національного університету ім. І.І. Мечникова за оригінальними методиками взаємодією $SnCl_4$ з гідразонами в ацетонітрилі. Комплекси охарактеризовано сукупністю фізико-хімічних методів дослідження: ІЧ та ПМР спектроскопія, мас-спектрометрія, електропровідність, термогравіметрія, рентгено-структурний аналіз (комплекси I, III) [10].

Для одержання модифікованих комплексами олова (I-IV) ЛПС була розроблена наступна методика. Спочатку при кімнатній температурі готували робочі розчини I-IV в диметилсульфоксиді (ДМСО) з молярною концентрацією 0,015 моль/л (V (об'єм) розчину 3 мл) та ЛПС в суміші $V(H_2O) : V(ДМСО) = 1.2 : 1.0$ з концентрацією $\sim 4,55 \cdot 10^{-4}$ моль/л, якщо прийняти $M(ЛПС) \sim 20000$ моль/л (маса ЛПС 37 = 20,0 мг, V розчину = 2,2 мл).

Модифікацію здійснювали зливанням певних об'ємів робочих розчинів ЛПС і комплексів I-IV (табл. 1), таким чином всюди було витримано молярне співвідношення $v(ЛПС) : v(I-IV) = 1 : 20$. Всі отримані суміші герметично закривали та витримували впродовж 2-х год при температурі 80 °С до одержання істинних розчинів. Їх об'єм після охолодження до $t_{\text{кімн.}}$ доводили до 2 мл диметилсульфоксидом для отримання розчинних зразків ($v(ЛПС) : v(I-IV) = 1,5 \cdot 10^{-7}$ моль : $3,0 \cdot 10^{-6}$ моль) або продовжували їх нагрівання при 80 °С для виділення з одержаних концентрованих розчинів кристалічних зразків ($v(ЛПС) : v(I-IV) = 1,0 \cdot 10^{-7}$ моль : $2 \cdot 10^{-6}$ моль). Зміст ЛПС та комплексу для кожної отриманої реакційної суміші вказано в табл. 1.

ІЧ-спектри поглинання ($350 - 4000 \text{ см}^{-1}$) зразків, таблетованих з КВг, записували на спектрофотометрі Shimadzu FTIR-8400S (Японія).

Співвідношення компонентів у реакційній суміші для отримання розчинів модифікованого комплексами (I-IV) ЛПС *R. aquatilis* 96U037 та його кристалічних зразків

Модифіковані ЛПС	Об'єм робочого розчину ЛПС, мл	Об'єм робочого розчину комплексу, мл	Співвідношення ЛПС: комплекс (I-IV)
отримання розчинів модифікованого комплексами ЛПС 37			
37(I)	0,3	0,2	37 : I = 3,00 мг : 1,50 мг
37(II)	0,3	0,2	37 : II = 3,00 мг : 1,58 мг
37(III)	0,3	0,2	37: III = 3,00 мг : 1,63 мг
37(IV)	0,3	0,2	37: IV = 3,00 мг : 1,59 мг
отримання кристалічних зразків модифікованого комплексами ЛПС 37			
37(I)	0,2	0,13	37 : I = 2,00 мг : 0,98 мг
37(II)	0,2	0,13	37 : II = 2,00 мг : 1,03 мг
37(III)	0,2	0,13	37: III = 2,00 мг : 1,06 мг
37(IV)	0,2	0,13	37: IV = 2,00 мг : 1,03 мг

Модифікуючі комплекси:

I – комплекс олова (IV) з 2-гідроксибензоїлгідразоном бензойного альдегіду (2-ОН-НВb): $M([SnCl_4(2-ОН-НВb)])$ (I) = 500,7 г/моль

II – комплекс олова (IV) з бензоїлгідразоном 4-диметиламінобензальдегіду (НВdb):

$M([SnCl_4(Bdb-H)])$ = 527,7 г/моль

III – комплекс олова (IV) з 2-гідроксибензоїлгідразоном 4-диметиламінобензальдегіду (2-ОН-НВdb):

$M([SnCl_4(2-ОН-Bdb-H)])$ = 543,7 г/моль

IV – комплекс олова (IV) з ізонікотиноїлгідразоном 4-диметиламінобензальдегіду (НІdb)

$M([SnCl_4(Idb-H)])$ = 528,7 г/моль

Результати та їх обговорення. В останні роки значно підвищився інтерес до імуностимулюючої терапії, що обумовлено тим, що в умовах дії на організм несприятливих факторів зовнішнього середовища, а також різних патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, спостерігається порушення імунологічної реактивності організму людини. Це висуває як одну з першочергових задач удосконалення засобів стимуляції імунної системи організму за рахунок створення нових нетоксичних, але високоефективних імуномодуляторів. Увагу дослідників привертають ЛПС, які здатні впливати на імунну систему макроорганізму, і в зв'язку з цим можуть бути використані як для підсилення специфічної імунотерапії і імунопрофілактики, так і у випадку необхідності екстреної індукції неспецифічної резистентності до бактеріальних і вірусних інфекцій при безуспішному застосуванні традиційних засобів терапії. Але із значної кількості речовин мікробної природи, які проявляють імуномодулюючу дію на організм, лише деякі знайшли застосування в медицині. Неможливість впровадження в медичну практику таких речовин, як ЛПС, які відомі як класичні імуномодулятори, обумовлена їх високою токсичністю, пірогенністю, наявністю побічних ефектів.

Дослідження токсичності ЛПС-37 проводилось на мишах, сенсibilізованих D-галактозамін-гідрохлоридом, що дозволяє використовувати в експериментах на два порядки нижчу дозу ЛПС. Токсичність (LD_{50}) нативного препарату досліджуваного ЛПС становила 75 мкг / мишу (рис. 1). Отримані результати характеризують досліджуваний ЛПС як малотоксичний. Такий рівень токсичності значно нижчий ніж у ешеріхій, і більш притаманний таким представникам ентеробактерій як прагії та будвіції [2].

Важливою характеристикою ЛПС є їх здатність провокувати підвищення температури тіла теплокровних [11]. Аналіз температурної реакції дозволяє оцінити висоту, тривалість та типи температурних коливань, що є важливим для прогнозування поведінки препарату в організмі. В результаті введення тваринам мінімальної пірогенної дози досліджуваного препарату ЛПС спостерігалось значне підвищення температури (рис. 2). Протягом першої години експерименту температура тіла піддослідних зростала на 0,6 °С. Температурна крива характеризувалась синусоїдою, а температура тіла нормалізувалась на час закінчення експерименту.

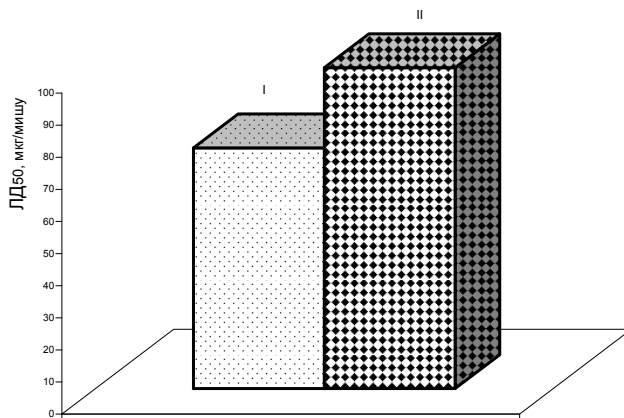


Рис. 1. Токсичність нативного (I) та модифікованого комплексом олова з бензоїлгідрозом 4-диметиламінобензальдегіду (II) ЛПС *R.aquatilis*

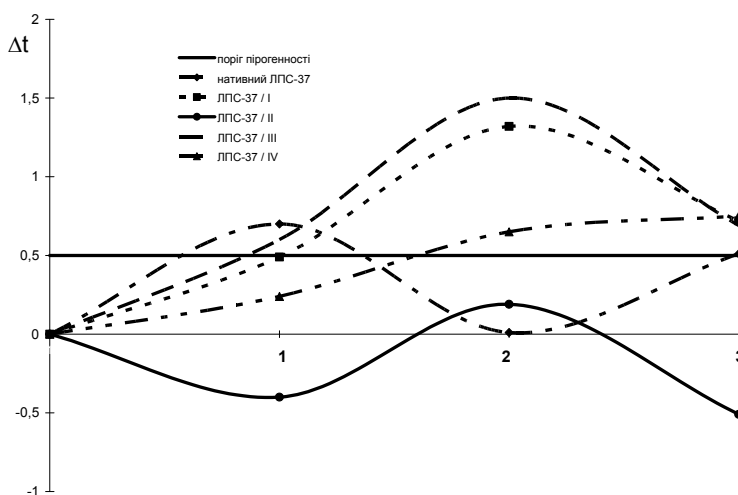


Рис. 2. Пірогенність нативного та модифікованих ЛПС *R.aquatilis* 96U037

Для зниження токсичності і пірогенності були одержані модифіковані форми ЛПС-37. Вибір як модифікаторів координаційних сполук олова (рис. 3) з гідрозонами бензойного альдегіду ґрунтувався на попередніх дослідженнях біологічної активності подібних сполук. Так, відомо [9], що координаційні сполуки германію з саліцилальгідрозонами хлорбензойної та гідроксибензойної кислот здатні пригнічувати ліпооксигеназний шлях перетворення арахідонової кислоти, що є одним із засобів зниження запальних процесів в організмі.

Одержання модифікованих ЛПС було підтверджено шляхом порівняння ІЧ спектрів ЛПС 37 з кристалічними зразками ЛПС-37 (I) – ЛПС-37 (IV). Аналіз ІЧ спектру та визначення смуг поглинання найважливіших функціональних груп ЛПС-37 проведені згідно з літературними даними [1, 7-8]. У височастотній області спектру ЛПС-37 спостерігається широка інтенсивна смуга в області 3700-3000 cm^{-1} , яка відповідає сумісним валентним коливанням асоційованих гідроксильної $\nu(\text{OH})$ та амідної груп $\nu(\text{NH})$, об'єднаних водневими зв'язками (рис. 4). При 2921 cm^{-1} та 2852 cm^{-1} зафіксовані дві смуги середньої інтенсивності, віднесені до валентних коливань $\nu(\text{CH})$; в області 2560-2520 cm^{-1} присутня мало інтенсивна нечітка смуга валентних коливань груп Р-ОН. В області 1720-1580 cm^{-1} відмічена широка смуга з максимумом при 1647 cm^{-1} , обумовлена коливаннями $\nu(\text{C}=\text{O})$ альдегідних (кетон-), а також $[\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)+\delta(\text{NH})]$ груп ЛПС. Визначити максимуми поглинання для кожної з них не вдалося через накладання їх смуг, хоча раніше в ІЧ спектрі ЛПС *R. aquatilis* 95U004 [4] нами була зафіксована $\nu(\text{C}=\text{O})$ з чітким максимумом при 1730 cm^{-1} . Виявлена менш інтенсивна смуга при 1417 cm^{-1} ($\delta(\text{CH}_2)$) зі слабо вираженими плечима на ній при 1452 та 1386 cm^{-1} ($\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$ і $\delta(\text{CH}_3)$ відповідно).

Смуга при 1234 см^{-1} низької інтенсивності віднесена до сумісних коливань $\nu(\text{P}=\text{O})$ фосфатних та складноферної $\text{C}=\text{O}$ –груп. Наявність високо інтенсивної розщепленої смуги при 1076 та 1035 см^{-1} з плечем при 973 см^{-1} обумовлена коливаннями фосфор-кисневмісних угруповань ($\nu(\text{P}-\text{O}-\text{C})$ і $\delta(\text{P}-\text{O}-\text{H})$) і $\delta(\text{CH})$, типових для вуглеводів. Слід зазначити, що у вищезгаданих областях спектри різних ЛПС суттєво подібні. Однак в області $750\text{-}1000\text{ см}^{-1}$, яка характеризує стереохімічні особливості молекул, а саме, положення глікозидного зв'язку, відмічено наступне: слабкі смуги при 914 , 871 та 813 см^{-1} характеризують, ймовірно, наявність як β -форми (високочастотні смуги), так і α -форми.

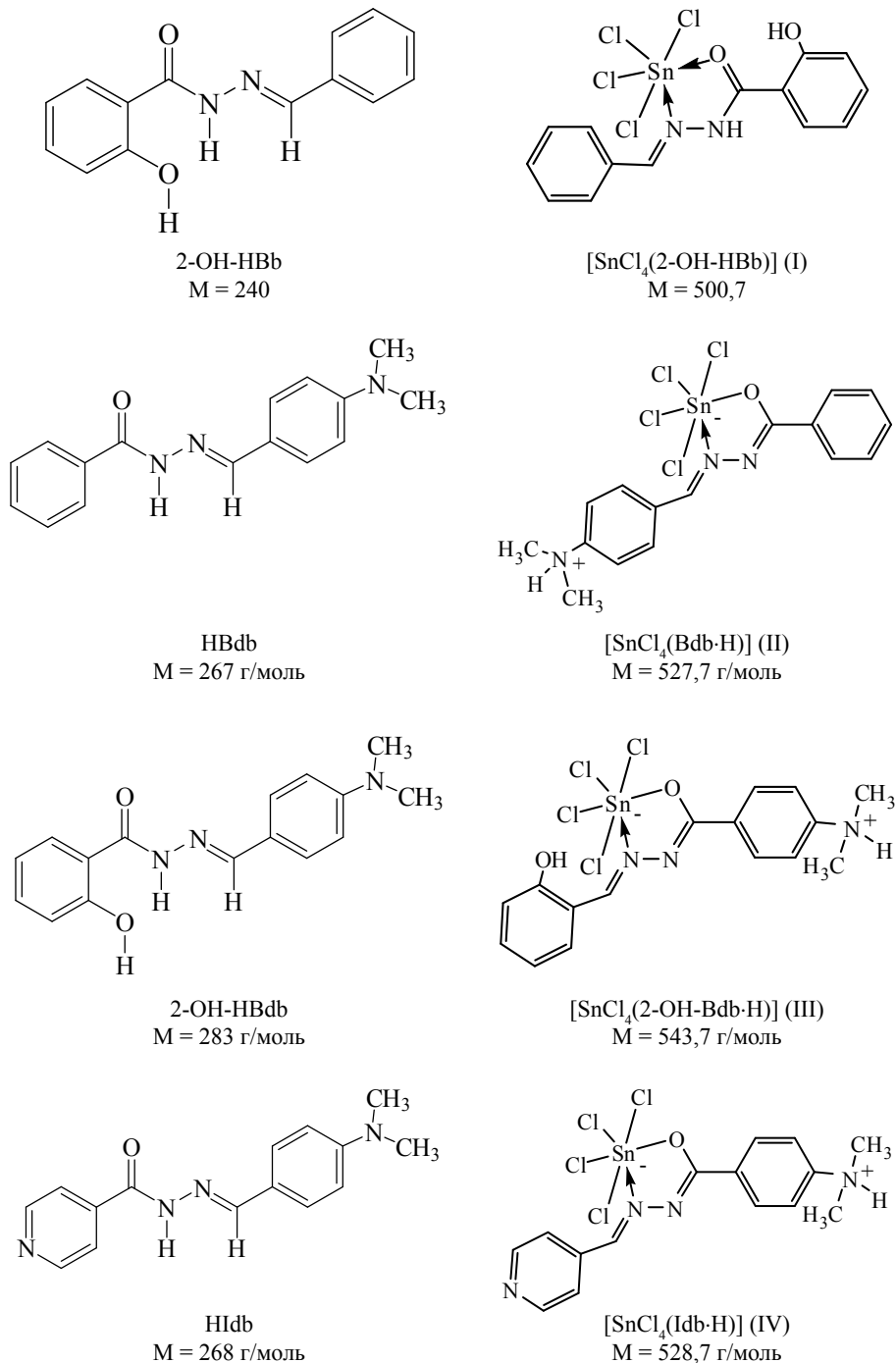
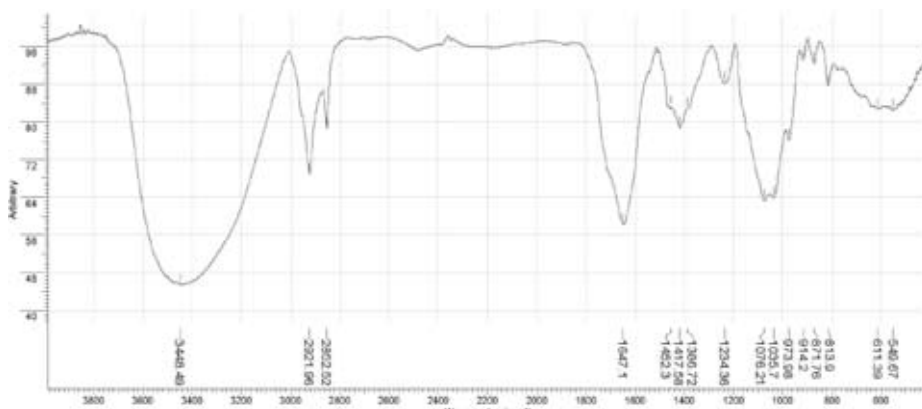
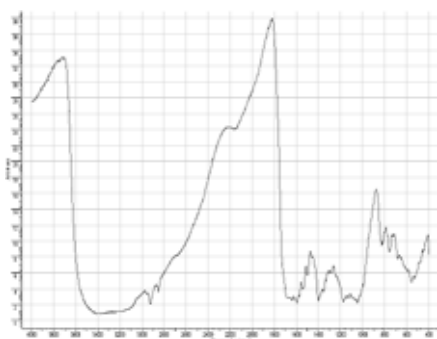


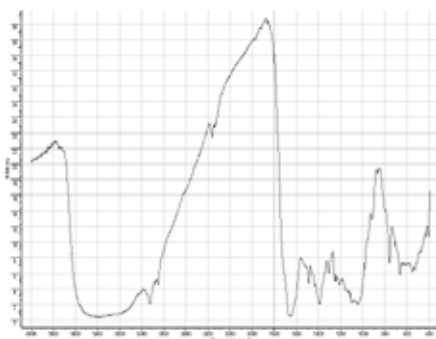
Рис. 3. Структури гідразонів і відповідних комплексів олова (I-IV)



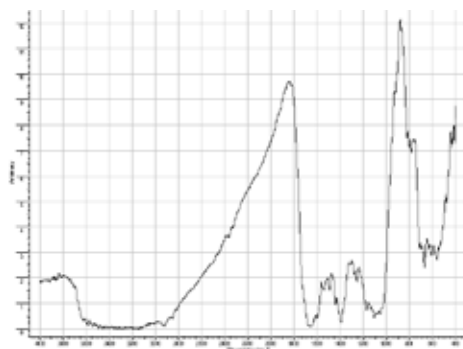
А



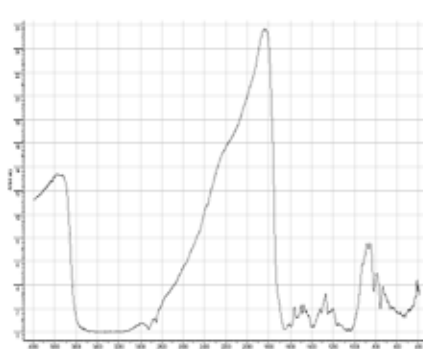
Б



В



Г



Д

Рис. 4. ІЧ спектри: нативного (А) та модифікованих комплексами (I-IV, Б-Д) ЛПС *R. aquatilis* 96U037

В спектрах ЛПС, модифікованих комплексами (I-IV) зразків (ЛПС-37 (I-IV)) порівняно з вихідним спостерігаються наступні зміни:

- широка інтенсивна смуга в височастотній області спектра, відповідальна за коливання $\nu(\text{OH})+\nu(\text{NH})$, зберігається з менш вираженим максимумом, що свідчить про збільшення асоціації вказаних груп;

- зберігаються смуги, відповідальні за коливання $\nu(\text{CH})$;

- відсутні смуги валентних коливань груп Р-ОН в області $2560-2520\text{cm}^{-1}$.

Суттєві відмінності спостерігаються в області коливань $\nu(\text{C}=\text{O})$, $\nu_{\text{ас}}(\text{COO}^-)$ і $\delta(\text{NH})$: в ІЧ спектрі ЛПС-37 (I) збільшується число характеристичних частот, в тому числі зв'язаних із коливаннями зв'язків функціональних груп $\nu(\text{C}=\text{O})$, $\nu(\text{CH}=\text{N})$ та $\delta(\text{NH})$ відповідного комплексу

(I) (1700, 1625, 1570, 1540 cm^{-1}). А в спектрах ЛПС-37 (II-IV) в цій же області спостерігаються лише смуги при 1600-1665 cm^{-1} та 1538-1540 cm^{-1} . Така відмінність ІЧ спектрів зразків, модифікованих комплексами I та II-IV, можна пояснити різною формою ліганду в них (кетонною та енольною відповідно).

У всіх спектрах ЛПС-37 (I-IV) присутні смуги при 1600 та 1490 cm^{-1} , обумовлені $\delta(\text{CH})$ ароматичного кільця комплексів I-IV. У спектрах всіх модифікованих зразків спостерігається невелике зміщення в низькочастотну область коливань $\nu_s(\text{COO}^-)$ порівняно з ЛПС-37 (1452 cm^{-1}) та 1400-1385 cm^{-1} в ЛПС-37(I-IV)), а деформаційні коливання $\delta(\text{CH}_2$ та $\text{CH}_3)$ проявляються у вигляді плечей до вказаної смуги.

Порівняно з нативним ЛПС *R. aquatilis* 96U037 в спектрах ЛПС-37 (I-IV) змінюється набір частот, відповідальних за коливання фосфор-кисневих зв'язків: замість смуги [$\nu(\text{P}=\text{O}) + \nu(\text{C}=\text{O}, \text{RCOOR})$] проявляються дві індивідуальні при 1300-1308 cm^{-1} та 1250 cm^{-1} відповідно. Змінюються також смуги, що відносяться до коливань $\nu(\text{P}-\text{O}-\text{C})$ та $\delta(\text{P}-\text{O}-\text{H})$: замість двох з'являються три у більш високочастотній області (1180-1170 cm^{-1} , 1120-1080 cm^{-1} та 1050-1040 cm^{-1}). Такі відмінності спостерігаються, напевно, внаслідок зміни системи водневих зв'язків та залучення киснефосфатної групи в зв'язування з оловом в зразках ЛПС-37 (I-IV). Це узгоджується з відсутністю в їх ІЧ спектрах частот $\nu(\text{P}-\text{O}-\text{H})$ та підтверджується появою нової смуги низької інтенсивності, характерної для коливань Sn-O в області 470-480 cm^{-1} .

Слід відмітити, що утворення модифікованих зразків супроводжується зміною стереохімії зв'язаного ЛПС: реалізується α -форма (ЛПС 37 (I, III, IV) або β -(ЛПС 37 (II)) замість двох (α - + β -)форм з різним розміщенням глікозидного зв'язку в вихідному ЛПС-37.

При дослідженні пірогенної активності модифікованих форм ЛПС виявилось наступне (рис. 2). З чотирьох отриманих модифікованих форм ЛПС лише одна (з комплексом олова з бензоїлгідразоном 4-диметиламінобензальдегіду) втратила здатність підвищувати температуру тіла. Всі інші похідні форми ЛПС характеризувались постійним підвищенням температури протягом перших двох годин експерименту. Після цього температура починала знижуватись, і по закінченню досліджень – нормалізувалась.

Модифікована форма ЛПС, що втратила пірогенність, характеризувалась також значним зниженням рівня токсичності. При введенні сенсibiliзованим тваринам 100 мкг модифікованого ЛПС усі дослідні тварини виживали (рис. 1).

Відомо, що кожна з складових ЛПС відповідає за певний вид активності. Так, якщо за токсичність та пірогенність відповідальним є ліпід А, то за О-специфічну активність – О-полісахарид, який визначає специфічність бактеріальної клітини загалом. Нативний препарат ЛПС-37 проявляє активність антигену, реагуючи як з гомологічними (*R. aquatilis* 96U037), так і з гетерологічними антисироватками, одержаними до культур *R. aquatilis* 96U035, 96U036 – представників третьої серогрупи, до якої належить і досліджуваний штам. Зовсім інша картина спостерігалась при вивченні взаємодії модифікованих форм ЛПС з антисироватками до вищезазначених культур *R. aquatilis*. Такі ЛПС повністю втрачали свою серологічну активність (рис. 5).

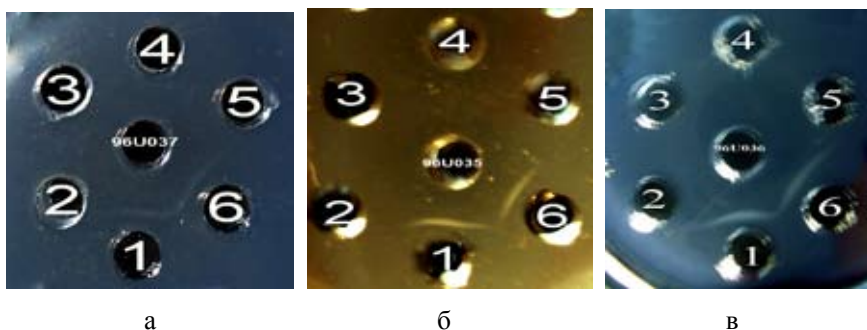


Рис. 5. Реакція подвійної імунодифузії в агарі за Оухтерлоні нативних (1, 6) та модифікованих (2-5) ЛПС *R. aquatilis* 96U037 з антисироватками до штамів: а – 96U035, б – 96U036, в – 96U037

Таким чином, в результаті проведених досліджень отримано модифіковані форми ЛПС *R. aquatilis* 96U037. Встановлено, що ЛПС, модифікований комплексом олова з бензоілгідрозоном 4-диметиламінобензальдегіду, характеризувався втратою пірогенності та здатністю суттєво знижувати токсичність. Модифікація ЛПС усіма комплексними сполуками олова з гідрозонами бензойного альдегіду привела до втрати серологічної активності, що може свідчити про їх взаємодію з певними групами, які входять до складу антигенної детермінанти.

Існує припущення [9], що розуміння ролі координаційних сполук у біосистемах може слугувати ключем для створення речовин із позитивними властивостями. Змінюючи метали та ліганди можна створити речовини зі спрямованою специфічною активністю та низькою токсичністю.

Можна припустити, що хімічна детоксикація ЛПС, яка дозволяє отримати препарати, що зберігають всі позитивні властивості ЛПС та позбавлені при цьому пірогенності та токсичності, робить можливим розширення спектру біологічних активностей цих глікополімерів, а також використання їх при конструюванні вакцин нового покоління.

*Автори висловлюють подяку завідувачу відділу нових та мало вивчених інфекцій Інституту мікробіології та імунології АМН України, д-р м.н. Сергію Івановичу Похилу за люб'язно надані для досліджень штами *R. aquatilis* 96U035, 96U036 та 96U037.*

Л.Б. Скоклюк¹, Л.Д. Варбанец¹, І.І. Сейфулліна², Н.В. Шматкова²

¹Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України, Київ

²Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова, Одеса

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НАТИВНЫХ И МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ *RAHNELLA AQUATILIS*

Резюме

Результаты сравнительных исследований токсичности нативного и модифицированного комплексными соединениями олова липополисахарида (ЛПС) *Rahnella aquatilis* 96U037 свидетельствуют, что вследствие модификации ЛПС комплексом олова с бензоилгидразоном 4-диметиламинобензальдегида наблюдается снижение его токсичности и потеря пирогенного эффекта. Все полученные производные полностью теряли антигенную активность как в гомологических, так и в гетерологических системах, что может свидетельствовать о взаимодействии модифицирующих комплексов с определенными группами, которые входят в состав антигенной детерминанты.

Ключевые слова: *Rahnella aquatilis*, липополисахарид, комплексные соединения олова, токсичность, пирогенность.

L.B. Skoklyuk¹, L.D. Varbanets¹, I.I. Seyfullina², N.V. Shmatkova²

¹Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

²Mechnikov Odessa National University, Odessa

BIOLOGICAL ACTIVITY OF NATIVE AND MODIFIED LIPOPOLYSACCHARIDES *RAHNELLA AQUATILIS*

S u m m a r y

The results of the comparative toxicity studies of native lipopolysaccharide (LPS) of *Rahnella aquatilis* 96U037 and that modified by tin complexes indicates that, due to the modification of LPS by tin complex with benzoylhydrazone of 4-dimethylaminobenzaldehyde, a decrease of its toxicity was observed that led to disappearance of the pyrogenic effect. All obtained derivatives lost completely the antigenic activity both in homologous and heterologous systems which may indicate to the interaction of modifying complexes with certain groups being the components of antigenic determinant.

The paper is presented in Ukrainian.

Key words: *Rahnella aquatilis*, lipopolysaccharide, complex tin compounds, toxicity, pyrogenicity.

The author's address: *Skoklyuk L.B.*, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.

1. *Беллами Л.* Инфракрасные спектры сложных молекул – М.: ИЛ, 1963. – 590 с.
2. *Варбанец Л.Д., Шубчинский В.В., Похил С.И.* Характеристика эндотоксического липополисахарида *Pragia fontium* DRL 27480 // Современные проблемы токсикологии. – 2006. – №2. – С.66 – 71.
3. *Варбанец Л.Д., Здоровенко Г.М., Книрель Ю.А.* Методы исследования эндотоксинов - К.: Наук. думка, 2006. – 237 с.
4. *Варбанец Л.Д., Скоклюк Л.Б., Шубчинский В.В., Сейфуллина Л.И., Шматкова Н.В., Похил С.И.* Активність нативних і модифікованих ліпополісахаридів *Rahnella aquatilis* // Біотехнологія. – 2010. – 3, №2. – С.33–41.
5. *Вейганд-Хильгетаг.* Методы эксперимента в органической химии – М.: Химия, 1968. – 944 с.
6. *Зеленин К.Н., Хорсеева Л.А., Алексеев В.В.* Физиологически активные комплексы гидразонов // Хим.- фарм. журн. – 1992. – 26. № 5. – С. 30– 36.
7. *Накамото К.* Инфракрасные спектры неорганических и координационных соединений – М.: Мир, 1966. – 411 с.
8. *Наканиси К.* Инфракрасные спектры и строение органических соединений – М.: Мир, 1965. – 216 с.
9. *Нікітін О.В., Галкін Б.М., Сейфулліна І.Й., Шматкова Н.В.* Вивчення впливу комплексів германію (IV) з саліцилальгідрозонами хлорбензойної та гідроксибензойної кислоти на ексудативне запалення, яке викликано різними флогогенними агентами // Biomedical and biosocial anthropology/ – № 4 – 2004. – С. 81– 83.
10. *Сейфулліна Л.И., Шматкова Н.В.* Новый этап в развитии координационной химии ароил-(пиридиноил)гидразонов замещенных бенз-(1-нафт)альдегидов // Вісник ОНУ. – 2008 – 13, №2. – С. 5– 26.
11. *Чеснокова Н.П., Моррисон В.В., Бриль Г.Е.* и др. Инфекционный процесс – М.: Изд-во Академии естествознания, 2006. – 484 с.
12. *Ouchterlony O.* Diffusion in gel methods for immunological analysis // Prog. Allergy. – 1962. – N6. – P. 3–15.
13. *Stewart I., Schluter P.J., Shaw G.R.* Cyanobacterial lipopolysaccharides and human health - a review// Environ Health. – 2006. – P. 5– 7.
14. *Vidaver A.* Synthetic and complex media for the rapid detection of fluorescence of phytopathogenic pseudomonas: effect of the carbon source // J. Appl. Microbiology. – 1967. – 15, №16. – P. 1523–1524.
15. *Wang, Xiaoyuan and Quinn, Peter J.* (2010). Lipopolysaccharide: Biosynthetic pathway and structure modification // Progress in Lipid Research. – 2010. – 49 (2). – P. 97–107.

Отримано 13.12.2010