

16. Аріон О. В. Методичні вказівки до навчальної польової практики з ґрунтознавства та географії ґрунтів. Київ: КНУ ім. Тараса Шевченка, 2002. 35 с.
17. Ромакін В. В. Комп'ютерний аналіз даних: навч. пос. Миколаїв: Вид-во МДГУ ім. Петра Могили, 2006. 144 с.

Дата надходження рукопису 22.05.2018

Цвєткова Ніна Миколаївна, доктор біологічних наук, професор, кафедри геоботаніки, ґрунтознавства та екології, Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, вул. Гагаріна, 72, м. Дніпро, Україна, 49010
E-mail: bggdnu@i.ua

Сараненко Інна Іванівна, кандидат біологічних наук, доцент, кафедри екології та географії, Херсонський державний університет, вул. Університетська, 27, м. Херсон, Україна, 73000
E-mail: i.i.saranenko@ukr.net

УДК 547.435.4:615.281.9: 579.23
DOI: 10.15587/2519-8025.2018.141396

ВЛИЯНИЕ 4-(1-АДАМАНТИЛ)-ФЕНОКСИ-3-(N-БЕНЗИЛ, N-ДИМЕТИЛ АМИНО)-2-ПРОПАНОЛ ХЛОРИДА НА *PSEUDOMONAS* SPP.

© Д. М. Дудикова, С. И. Войчук, Н. А. Врынчану

Одним из основных возбудителей внутрибольничных инфекций является *Pseudomonas aeruginosa*, высокая устойчивость которого к современным антимикробным средствам приводит к снижению эффективности антибактериальной химиотерапии и необходимости поиска новых активных соединений. Производные адамантана, проявляющие широкий спектр биологической активности, могут быть рассмотрены как перспективный класс веществ с антимикробным действием.

Цель. Установить чувствительность и изменения ультраструктуры *P. aeruginosa* при действии 4-(1-адамантил)-фенокси-3-(N-бензил, N-диметиламино)-2-пропанол хлорида (шифр КВМ-97).

Материалы и методы. Определение антимикробной активности исследуемого соединения в отношении бактерий рода *Pseudomonas* проводили методом серийных разведений в жидкой питательной среде. Для изучения влияния соединения на ультраструктуру клеток их инкубировали в течение 1, 3, 6 и 24 ч в среде, содержащей соединение в концентрациях 0,5 МПК и 2,0 МПК. Полученные образцы анализировали методом трансмиссионной электронной микроскопии после контрастирования уранил ацетатом и цитратом свинца.

Результаты. Исследование антисинежной активности КВМ-97 показало, что соединение ингибирует рост *Pseudomonas* spp. в концентрации 2,5 мкг/мл. Электронно-микроскопическое исследование показало, что в присутствии КВМ-97 в клетках *P. aeruginosa* регистрируется повреждение клеточной оболочки и цитоплазматической мембраны (инвагинации, разрывы) с последующей дезорганизацией клеточного содержимого, лизисом и гибелью клеток. Указанные изменения имеют дозозависимый характер, регистрируются уже через 1 час экспозиции с соединением и усиливаются со временем инкубации.

Выводы. Проведенные исследования показали, что соединение КВМ-97 проявляет выраженную ингибирующую активность в отношении исследованных бактериальных штаммов. Обнаруженные изменения ультраструктуры *P. aeruginosa* свидетельствуют, что одним из механизмов действия 4-(1-адамантил)-фенокси-3-(N-бензил, N-диметиламино)-2-пропанол хлорида является влияние на мембранный аппарат бактериальной клетки.

Ключевые слова: производные адамантана, механизм действия, ультраструктура клетки, *Pseudomonas aeruginosa*, антибактериальное действие.

1. Введение

Pseudomonas aeruginosa – один из основных возбудителей внутрибольничных инфекций, имеющих наибольшее значение у пациентов с иммунодефицитными состояниями, заболеваниями дыхательных путей (муковисцидоз, нозокомиальная пневмония), органов зрения (кератит) и др.

Синежная палочка способна быстро приобретать резистентность к противомикробным агентам, что приводит к неэффективности антибактериальной терапии. В связи с этим необходим

поиск антисинежных препаратов с новыми механизмами действия.

2. Литературный обзор

Производные адамантана обладают широким спектром фармакологических свойств. Механизм действия адамантансодержащих препаратов разных фармакотерапевтических групп связан с изменением физического состояния мембран клеток, что приводит к увеличению их проницаемости [1]. Механизм действия также связан с блокировкой ионных кана-

лов (глутаматные рецепторы NMDA подтипа, M_2 -каналы вируса гриппа А) [2, 3]. В исследовании [4] показано, что мишенью действия производных адамантана, обладающих антимикробной активностью, также может являться мембранный аппарат бактериальных и грибных клеток. Это подтверждается данными электронно-микроскопического исследования клеток дрожжевых грибов *Candida albicans* при воздействии 4-адамантил-1-(1-аминобутил)-бензола (шифр АМ-166). Показано, что производное адамантана нарушает целостность мембраны и клеточной оболочки [5]. Однако соединение АМ-166 не обладает антиснежной активностью, поэтому нами были проведены целенаправленные скрининговые исследования среди четвертичных солей 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-3-диалкиламино-2-пропанола, в результате чего было выделено соединение КВМ-97.

3. Цель и задачи исследования

Цель исследования – установление изменений ультраструктуры *Pseudomonas aeruginosa* при действии 4-(1-адамантил)-фенокси-3-(N-бензил, N-диметиламино)-2-пропанол хлорида (шифр КВМ-97).

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Оценить антимикробную активность соединения КВМ-97 в отношении *Pseudomonas spp.*
2. Исследовать действие соединения КВМ-97 на ультраструктуру *P.aeruginosa* с помощью электронной микроскопии.

4. Материалы и методы

Микроорганизмы и среды. В работе использовали штаммы бактерий *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas putida* 4126, *Pseudomonas fluorescens* 4125, полученные из Института микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного НАН Украины. В исследованиях использовали среду № 8 следующего состава, г/л: пептон сухой ферментативный – 9,0, гидролизат казеина ферментативный – 8,0, дрожжевой экстракт – 3,0, натрия хлорид – 5,0, глюкоза – 5,0, натрия гидроортофосфат – 1,5, pH среды после стерилизации $7,2 \pm 0,2$ (производство ОАО "БИОМЕД" им И. И. Мечникова, Российская Федерация).

Исследуемое соединение. Соединение 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-3-(N-бензил, N-диметиламино)-2-пропанол хлорид (шифр КВМ-97) синтезировано в Институте органической химии НАН Украины к.фарм.н. Коротким Ю.В [6].

Исследование чувствительности бактерий к КВМ-97. Определение антибактериальной активности исследуемого вещества проводили методом серийных разведений в жидкой питательной среде согласно общепринятым методикам по определению минимальной подавляющей концентрации (МПК) [7]. Посевная доза составляла $1-2 \times 10^5$ КОЕ/мл. Пробирки с бактериальными культурами инкубировали в термостате при $35-37^\circ\text{C}$ на протяжении 24 часов. В качестве МПК учитывали максимальное разведение веществ, при котором визуально отсутствовал рост на протяжении определенного экспериментами времени.

Приготовление образцов для трансмиссионной электронной микроскопии. Для определения влияния соединения на ультраструктуру бактерий *P. aeruginosa* культуру выращивали в жидкой среде при $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 4-6 часов для достижения лог-фазы. Конечная концентрация бактериальных клеток в пробирках с жидкой средой составляла 10^6 КОЕ/мл.

Культуру клеток вносили в питательную среду, содержащую соединение КВМ-97 в концентрациях $0,5 \times \text{МПК}$ и $2,0 \times \text{МПК}$. Клетки инкубировали с соединением при температуре 37°C в течение 1, 3, 6 и 24 часов. Далее отделяли осадок (2000 г, 5 мин) и ресуспендировали в 0,1 М PBS (фосфатном буфере Соренсона) (pH 7,2). Фиксацию клеток микроорганизмов, заливку в смолы проводили согласно методике, приведенной в [8] с незначительной модификацией. Полученную суспензию выдерживали 10 мин с фиксатором (смесь 2,5% глутарового альдегида и 4,0% формальдегида в равных объемах), центрифугировали при 2000 г (5 мин). Осадок фиксировали в течении 1 часа при комнатной температуре, после чего клетки трижды отмывали 0,1 М PBS (pH 7,2). Полученный осадок смешивали с 10 % раствором желатина (температура 30°C) до получения однородной массы и оставляли при $(18-22)^\circ\text{C}$ до образования плотной массы, нарезали на части (объем до 1 мм^3). Полученные частички заливали 1,0% раствором тетраокси осмия в 0,1 М PBS (pH 7,2), выдерживали 60 мин при $(20-24)^\circ\text{C}$, трижды отмывали от тетраокси осмия 0,1 М PBS (pH 7,2) и обезвоживали возрастающими концентрациями ацетона (30 %, 50 %, 70 %, 80 %, 90 % и трижды 100%), выдерживая их по 10 мин в каждой. Обезвоженные образцы заливали сначала смесью ацетон-Ероне в соотношении 3:1, 1:1 и 1:3. В первых двух случаях образцы выдерживали 30 мин, а в последнем – 60 мин при комнатной температуре. В дальнейшем образцы заливали 100 % смолой Ероне без затвердителя и оставляли на 12 часов при 40°C . После окончания срока экспозиции образцы переносили в смолу с затвердителем и оставляли на 48 час при 60°C для полимеризации. Подготовленные таким образом образцы использовали для ультрамикротомии.

В состав смолы для заливки входили Епон 812 (20,0 мл), додецилсукциновый ангидрид (16,0 мл), метилнадиновый ангидрид (8,0 мл) и бензилдиметиламин (1,3 мл).

Срезы толщиной 50-80 нм получали с помощью ультрамикротомы LKB 8800 в автоматическом режиме. Стекланные ножи готовили с помощью устройства для приготовления стекланных ножей KnifeMaker LKB 7800 согласно [9]. Полученные ультратонкие срезы переносили на покрытые формарной пленкой медные сеточки и контрастировали согласно [10] при помощи 1,0 % водного раствора уранил ацетата в течение 20 мин. После промывки дистиллированной водой. Срезы докрашивали в растворе цитрата свинца 2 мин и повторно промывали дистиллированной водой. После этого срезы высушивали при температуре $18-22^\circ\text{C}$ и исследовали методом трансмиссионной электронной микроскопии в микроскопе JEM-1400 (Jeol, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ.

5. Результаты исследований и их обсуждение

Результаты исследования антисинегнойной активности соединения показали (табл. 1), что производное 1-адамантанфенола обладает выраженной активностью в отношении грамотрицательных неферментирующих бактерий. Соединение KBM-97 ингибирует рост *Pseudomonas* spp. в концентрации 2,5 мкг/мл.

С целью установления особенностей действия производного 1-адамантанфенола далее были изучены изменения ультраструктуры клеток грамотрицательных бактерий рода *Pseudomonas* под его влиянием.

При изучении ультратонких срезов *P. aeruginosa*, необработанных соединением, клетки имели палочковидную форму с закругленными концами, размером 0,5-0,8×1,3-2,8 мкм (рис. 1, а).

Таблица 1

Чувствительность (мкг/мл) штаммов *Pseudomonas* spp. к действию соединения KBM-97

Условия эксперимента	Минимальная подавляющая концентрация (МПК), мкг/мл		
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>P. putida</i> 4126	<i>P. fluorescens</i> 4125
KBM-97	2,5	2,5	2,5

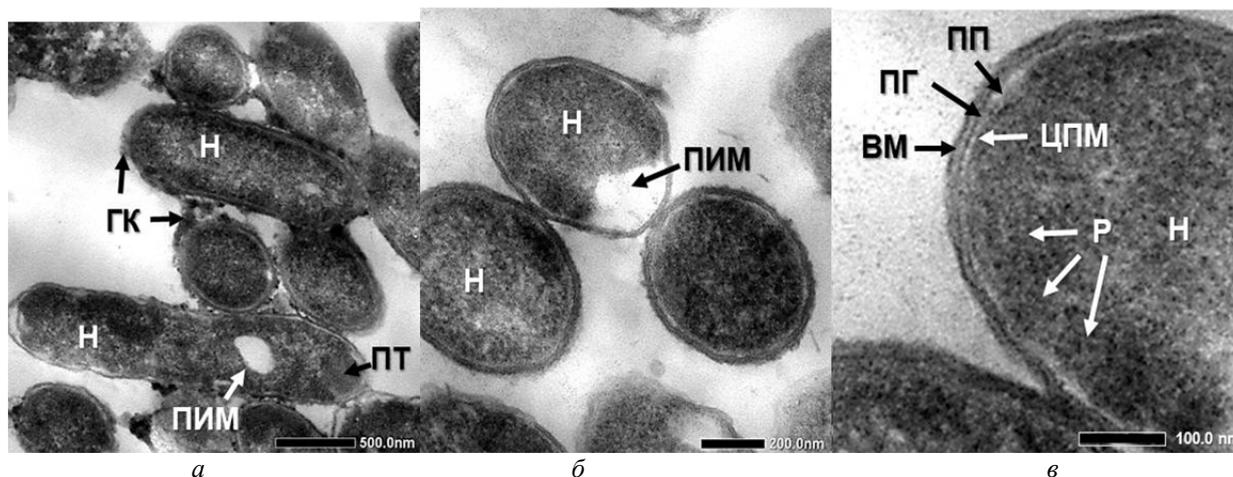


Рис. 1. Ультраструктура интактных клеток *P. aeruginosa*: а – общий вид клеток бактерий, срезаемых в различных плоскостях; б – поперечные срезы клеток; в – структура клеточной стенки. Электронная микроскопия. Увеличение 10000 (а), 30000 (б), 40000 (в). Н – нуклеоид, ПТ – полярные тельца, ПИМ – полость, образованная инвагинированной мембраной, ГК – гликокаликс, Р – рибосомы, ЦПМ – цитоплазматическая мембрана, ПГ – пептидогликан, ПП – периплазматическое пространство, ВМ – внешняя мембрана

В центральной части клетки *P. aeruginosa* находится нуклеоид неправильной конфигурации, представленный осмофобной зоной, слабо дифференцированной от содержимого цитоплазмы. Полирибосомальные комплексы в основном расположены вокруг нуклеоида и тем самым создают гранулярную электронноплотную зону в цитоплазме, отделяющую нуклеоид от цитоплазматической мембраны (рис. 1). На одном из концов встречаются электронноплотные гранулы (полярные тельца), которые могут являться включениями полифосфатов (волютиновые гранулы). Снаружи клетки окружены слабо выраженным слоем гликокаликса (рис. 1, а). Клеточная стенка представлена электронноплотными внешней мембраной и слоем пептидогликана, между которыми находится слой с низкой электронной плотностью (рис. 1, в); общая толщина этих слоев составила 180–200 Å. Внутренняя мембрана (цитоплазматическая мембрана, ЦПМ) толщиной 70 Å, отделена от остальных слоев клеточной стенки периплазматическим пространством, толщина которого не постоянна. Местами ЦПМ инвагинирует внутрь клетки, образуя полости (рис. 1, а, б), которые полностью или частично заполнены веществом с низкой электрон-

ной плотностью; в зависимости от угла ультратонкого среза такие внутриклеточные образования могут напоминать клеточные вакуоли.

Деление клеток происходило путем перетяжки, которая, в основном, возникала в центральной части клетки. В месте деления одновременно отмечалась инвагинация как клеточной стенки, так и ЦПМ.

Через 1 час экспозиции *P. aeruginosa* с соединением KBM-97 в концентрациях 0,5 МПК и 2,0 МПК происходили изменения как в морфологии клеточной стенки, так и организации цитоплазмы (рис. 2). Клеточная стенка со множественными мелкими инвагинациями приобретает волнистый вид, толщина внешних трех слоев остается та же, что и в контроле. ЦПМ плотно прилегала к цитоплазме и отделяется от слоя пептидогликана тонким слоем периплазматического пространства (рис. 2, в, е). Полирибосомальные комплексы расположены в основном вдоль ЦПМ. При 0,5 МПК в клетках обнаруживаются полярные тельца (рис. 2, а), в то время как при 2,0 МПК полярных телец нет, а на их месте присутствуют включения с низкой электронной плотностью окруженные мембраной (показаны стрелочкой с закругленным концом на рис. 2, з, е).

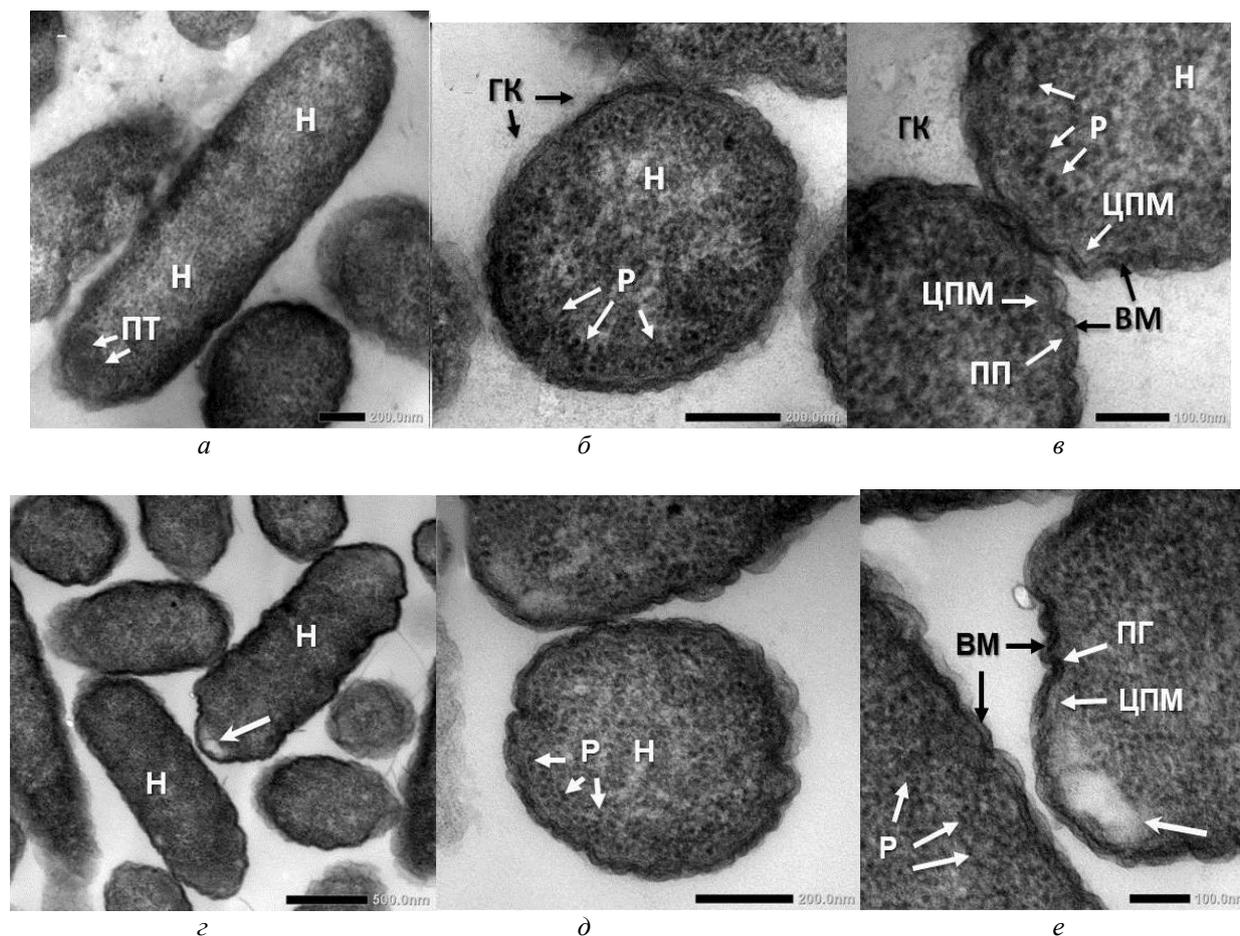


Рис. 2. Ультраструктура клеток *P. aeruginosa* через 1 час инкубации с КВМ-97 в концентрациях 0,5 и 2,0 МПК: *a* – продольный срез клетки, 0,5 МПК; *б* – поперечный срез клетки, 0,5 МПК; *в* – структура клеточной стенки, 0,5 МПК; *г* – продольный срез клетки, 2,0 МПК; *д* – поперечный срез клетки, 2,0 МПК; *е* – структура клеточной стенки, 2,0 МПК. Электронная микроскопия. Увеличение 15000 (*a*), 30000 (*б*), 50000 (*в*), 10000 (*г*), 30000 (*д*), 40000 (*е*). Н – нуклеоид, ПТ – полярные тельца, ГК – гликокаликс, Р – рибосомы, ЦПМ – цитоплазматическая мембрана, ПП – периплазматическое пространство, ПГ – пептидогликан, ВМ – внешняя мембрана

Через 3 часа инкубации наблюдалось нарушение целостности клеточной оболочки (рис. 3, *a*, *б*, *г*, *д*). В клетках, обработанных соединением КВМ-97 в обеих изученных концентрациях, наблюдалось уменьшение толщины внешних слоев клеточной стенки до 130-170 Å. При концентрации КВМ-97 0,5 МПК отмечено образование внеклеточных везикулярных структур, диаметр которых может достигать 120 нм (рис. 3, *a*, *б*). Подобных структур не выявлено у клеток при воздействии на них вещества КВМ-97 в концентрации 2,0 МПК. В последнем случае отмечены многочисленные деформации и возможно разрывы клеточной стенки (рис. 3, *г*, *д*). Обе концентрации приводили к образованию участков с конденсированной цитоплазмой, заполненной мелкими электронноплотными гранулами и не имеющие собственных мембран. В случае низкой

концентрации КВМ-97 конденсация цитоплазмы происходила в основном на концах клеток, в то время как при высокой концентрации КВМ-97 участки конденсированной цитоплазмы не имели определенного положения и обнаруживались в различных частях клетки.

После 6 часов наблюдали прогрессирующую конденсацию цитоплазмы под влиянием обеих исследованных концентраций КВМ-97.

В цитоплазме клеток, обработанных 0,5 МПК, участки конденсированной цитоплазмы теперь обнаруживаются по всему объему клетки (рис. 4, *a*), а при 2,0 МПК отмечены просветление цитоплазмы и ее фрагментация (рис. 4, *б*). В обоих случаях обнаружены инвагинации ЦПМ и отслоение клеточной оболочки.

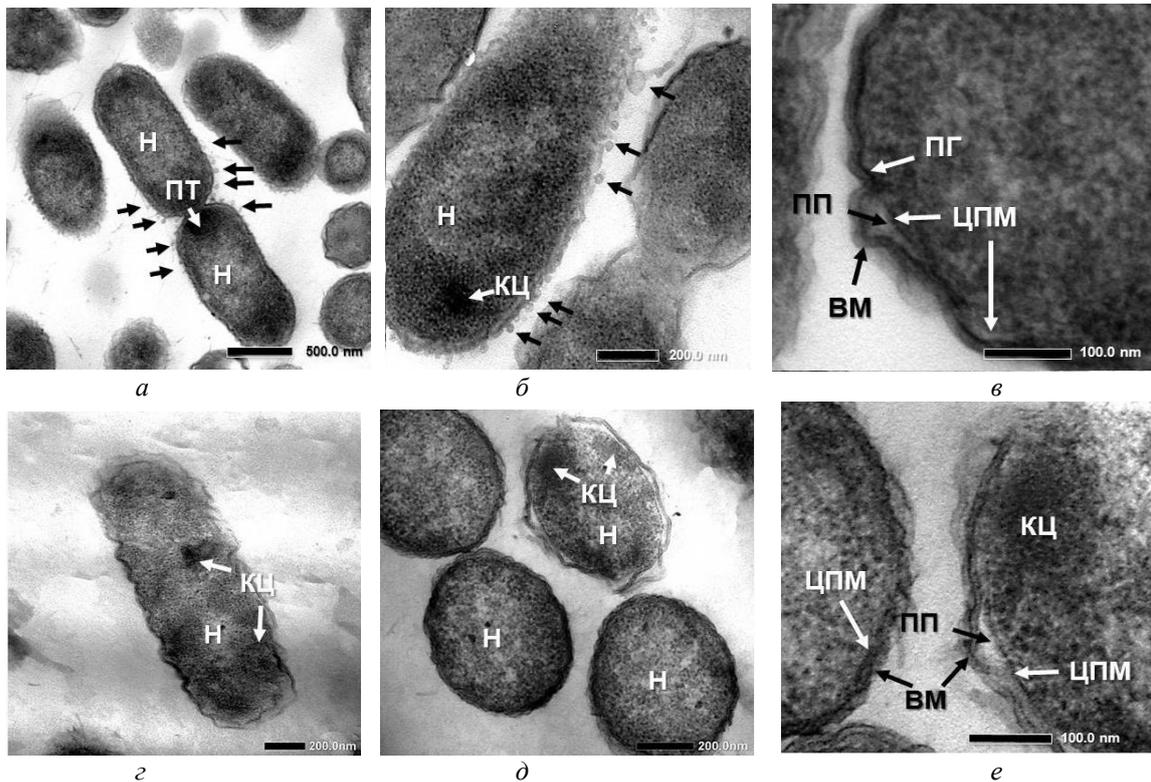


Рис. 3. Ультраструктура клеток *P. aeruginosa* через 3 часа инкубации с KBM-97 в концентрациях 0,5 и 2,0 МПК: *a, б* – продольные срезы клеток, 0,5 МПК; *в* – структура клеточной стенки, 0,5 МПК; *г* – продольный срез клетки, 2,0 МПК; *д* – поперечный срез клетки, 2,0 МПК; *е* – структура клеточной стенки, 2,0 МПК. Электронная микроскопия. Увеличение 8000 (*a*), 15000 (*б*), 50000 (*в*), 15000 (*г*), 20000 (*д*), 50000 (*е*). Н – нуклеоид, ПТ – полярные тельца, КЦ – конденсированная цитоплазма, ЦПМ – цитоплазматическая мембрана, ПП – периплазматическое пространство, ПГ – пептидогликан, ВМ – внешняя мембрана, стрелочки указывают на внеклеточные везикулярные структуры

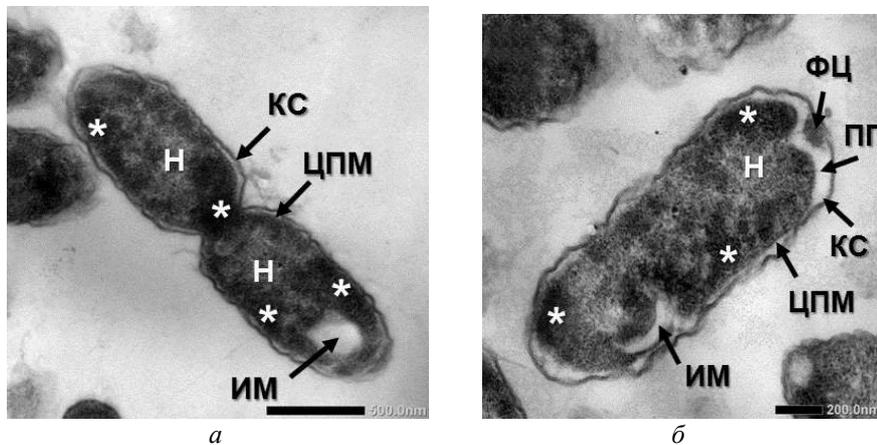


Рис. 4. Ультраструктура клеток *P. aeruginosa* через 6 часов инкубации с KBM-97: *a* – концентрация 0,5 МПК; *б* – концентрация 2,0 МПК. Электронная микроскопия. Увеличение 12000 (*a*), 15000 (*б*). КС – клеточная стенка, Н – нуклеоид, ИМ – инвагинация цитоплазматической мембраны, * – участки конденсированной цитоплазмы, ЦПМ – цитоплазматическая мембрана, ПП – периплазматическое пространство, ФЦ – фрагментация цитоплазмы

После 24-часовой экспозиции *P. aeruginosa* с соединением KBM-97 в концентрации 0,5 МПК регистрировались изменения клеточной структуры идентичные тем, которые регистрировались через 6 часов экспозиции с соединением в концентрации 2,0 МПК (рис. 5, *a*). В то же время среди немногочисленных бактерий выживших после пребывания 24 часа под действием KBM-97 с МПК 2,0, отмечены изменения в сторону морфологии нормальной клетки с некото-

рыми отличиями: клеточная стенка существенно уплотнена за счет уменьшения периплазматического пространства и толщина ее составляет 350-450 Å, внешняя мембрана волнистая (со множеством инвагинаций), а внутренняя мембрана гладкая, плотно прилегает к цитоплазме, в которой по периферии расположены многочисленные рибосомы и полирибосомальные комплексы, а в центре клетки сосредоточен нуклеоид (рис. 5, *б, в*).

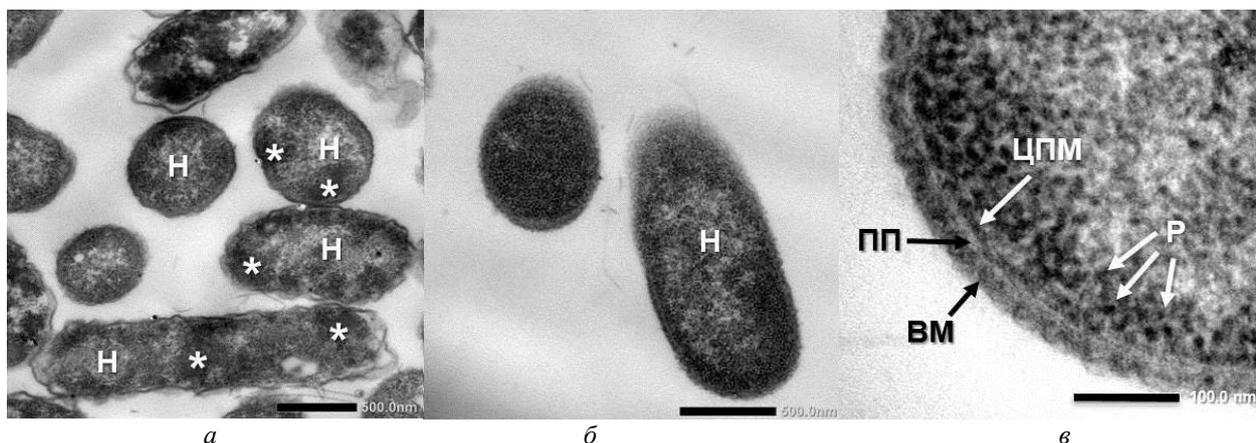


Рис. 5. Ультраструктура клеток *P. aeruginosa* через 24 часа инкубации с KBM-97: *a* – концентрация 0,5 МПК; *б*, *в* – концентрация 2,0 МПК. Электронная микроскопия. Увеличение 10000 (*a*), 12000 (*б*), 50000 (*в*). Н – нуклеоид, * – участки конденсированной цитоплазмы, ВМ – внешняя мембрана, ЦПМ – цитоплазматическая мембрана, ПП – периплазматическое пространство, Р – рибосомы

Проведенные исследования показали, что в присутствии KBM-97 в клетках *P. aeruginosa* регистрируется повреждение клеточной оболочки и цитоплазматической мембраны (инвагинации, разрывы) с последующей дезорганизацией клеточного содержимого, лизисом и гибелью клеток. Указанные изменения имеют дозозависимый характер, регистрируются уже через 1 час экспозиции с соединением и усиливаются со временем инкубации. Но некоторые особенности реакции клеток на исследуемое соединение оказались характерными для разных концентраций KBM-97. Так, в присутствии 0,5 МПК соединения KBM-97 обнаружены внеклеточные везикулы размером до 120 нм после 3 часов экспозиции, которые не выявлены при большей концентрации. Эти структуры обнаруживаются у синегнойной палочки и у других представителей грамотрицательных бактерий при действии токсических факторов и необходимы для выведения их из микробных клеток.

Также, в присутствии соединения в концентрации 2,0 МПК отмечено исчезновение электронноплотных включений (полярных телец), которые в норме располагаются на полюсах этих клеток уже через 1 час культивирования. В то же время под действием 0,5 МПК эти включения сохраняются на протяжении минимум 3 часов. Следует отметить, что отдельные клетки сохраняют морфологические признаки характерные для нормальных жизнеспособных клеток при обеих исследованных концентрациях KBM-97, что, возможно, связано с тем, что клетки *P. aeruginosa* находились на различных стадиях роста, а соединение влияет на клетки в фазе активного деления.

Литературные данные свидетельствуют о наличии сходных морфологических изменений при действии различных антимикробных средств. Так, пептидный антибиотик полимиксин В вызывает дезорганизацию ЦПМ *P. aeruginosa*, способствует выходу внутриклеточного содержимого через "поры" в мембране, способствует коагуляции цитоплазмы с образованием участков мембраны, напоминающих клубки [11]. Коагулированный цитоплазматический материал *P. aeruginosa* может являться осадком аномальных белков или денатурированной мембраны. О повреждении внешней

мембраны свидетельствует увеличение извилистости и многочисленные выступы [12]. Похожие результаты получены также при действии на клетки синегнойной палочки гентамицина. Механизм действия аминогликозидного антибиотика обусловлен не только угнетением синтеза белка, но и нарушением липидного бислоя мембраны, что приводит к лизису бактериальных клеток. При действии гентамицина отмечается увеличение количества мембранных везикул до пяти раз и их размера - до 100-200 нм в диаметре (в норме – до 50 нм). Везикулы, образованные клетками *P. aeruginosa* и другими грамотрицательными бактериями, содержат эндотоксины (ЛПС), внешние мембранные белки и некоторые гидролитические ферменты, в т.ч. протеазы, щелочную фосфатазу и др. Эти везикулы способны взаимодействовать с эпителиальными клетками и являются источником факторов вирулентности. Образование везикул в клетках синегнойной палочки также наблюдается в присутствии NaN_3 , KCN, ЭДТА [13]. Увеличение образования и выделение везикул из клеток бактерий может наблюдаться и в организме пациентов гнойно-воспалительными заболеваниями при применении бактерицидных препаратов, что требует использования детоксикационных препаратов [14].

При воздействии β -лактамовых антибиотиков (амикацин, имипенем, меропенем) на *P. aeruginosa* регистрируются изменения морфологии клеток, связанные с «переходом» бактерий в кокковидную форму [15].

Нарушение морфологии клеток синегнойной палочки, обусловленное мембранотропной активностью, отмечено также при воздействии экстрактов растений, например, вероники (*Vernonia cinerea*) [16].

Полученные данные позволяют отнести производные адамантана к препаратам с мембранотропным механизмом действия [17].

Таким образом, проведенное электронно-микроскопическое исследование субмикроскопической организации синегнойной палочки под воздействием производного адамантана KBM-97 позволило выявить динамику деструкции бактериальных клеток, глубина и степень выраженности которой находилась в прямо пропорциональной зависимости от длительности воздействия вещества и его концентрации.

Полученные в экспериментах данные свидетельствуют о том, что одним из механизмов действия 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-3-(N-бензил, N-диметиламино)-2-пропанол хлорида является влияние на мембранный аппарат бактериальной клетки.

6. Выводы

1. Соединение 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-3-(N-бензил, N-диметиламино)-2-пропанол хлорида (КВМ-97) проявляет антибактериальную активность, нарушает рост и размножение *Pseudomonas* spp.

2. При инкубации с соединением КВМ-97 в течении 1 часа в клетках *P. aeruginosa* регистрируется повреждение клеточной оболочки и цитоплазматической мембраны (инвагинации, разрывы) с последующей дезорганизацией клеточного содержимого, лизисом и гибелью клеток. Указанные изменения имеют дозозависимый характер и усиливаются со временем инкубации.

3. Влияние на мембранный аппарат бактериальной клетки может быть одним из механизмов действия 1-[4-(1-адамантил)-фенокси]-3-(N-бензил, N-диметиламино)-2-пропанол хлорида.

Литература

1. Adamantane in Drug Delivery Systems and Surface Recognition / Štímac A. et. al. // *Molecules*. 2017. Vol. 22, Issue 2. P. 297. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules22020297>
2. Изучение эффектов инъекционной формы гимантана на экспериментальных моделях паркинсонического синдрома / Капица И. Г. и др. // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2012. № 2. С. 10–16.
3. Moorthy N. S., Poongavanam V., Pratheepa V. Viral M2 ion channel protein: a promising target for anti-influenza drug discovery // *Mini Rev Med Chem*. 2014. Vol. 14, Issue 10. P. 819–830.
4. Взаємодія похідного адамантану з компонентами біомембран / Вринчану Н. О. и др. // *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2007. Т. 11, № 2/1. С. 534-535.
5. Вринчану Н. О., Сергієнко О. В., Максимов Ю. М. Дослідження деяких сторін механізму антигрибкової дії нового похідного адамантану // *Морфологія*. 2009. Т. 3, № 2. С. 24-27.
6. 1-[4-(1-Адамантил)-фенокси]-3-(N-бензил, N-диметиламино)-2-пропанол хлорид: Пат. № 89570. МПК C07C 213/00 / Короткий Ю. В. и др. № a200804978; заявл. 17.04.2008; опубл. 10.02.2010, Бюл. № 3.
7. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: метод. рек. / під ред. Ю. Л. Волянського, Ш. С. Гриценко, В. П. Широкова та ін. Київ, 2004. 38 с.
8. Hagler H. K. Ultramicrotomy for Biological Electron Microscopy // *Methods in Molecular Biology*. 2007. P. 67–96. doi: https://doi.org/10.1007/978-1-59745-294-6_5
9. Ellis E. A. Poststaining Grids for Transmission Electron Microscopy // *Methods in Molecular Biology*. 2007. P. 97–106. doi: https://doi.org/10.1007/978-1-59745-294-6_6
10. Histopathology Kits: methods and applications / F. Venerucci et. al. (Eds.). Bologna, 1998. 95 p.
11. Gilleland H. E. JR., Murray R. G. E. Ultrastructural study of polymyxin-resistant isolates of *Pseudomonas aeruginosa* // *Journal of bacteriology*. 1976. Vol. 125, Issue 1. P. 267–281.
12. Functional and ultrastructural changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by *Cinnamomum verum* essential oil / Bouhdid S. et. al. // *Journal of Applied Microbiology*. 2010. Vol. 109, Issue 4. P. 1139–1149. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04740.x>
13. Martin N. L., Beveridge T. J. Gentamicin interaction with *Pseudomonas aeruginosa* cell envelope // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1986. Vol. 29, Issue 6. P. 1079–1087. doi: <https://doi.org/10.1128/aac.29.6.1079>
14. Kadurugamuwa J. Natural release of virulence factors in membrane vesicles by *Pseudomonas aeruginosa* and the effect of aminoglycoside antibiotics on their release // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1997. Vol. 40, Issue 5. P. 615–621. doi: <https://doi.org/10.1093/jac/40.5.615>
15. Morphological and Bactericidal Effects of Amikacin, Meropenem and Imipenem on *Pseudomonas aeruginosa* / Moghoofei M. et. al. // *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2015. Vol. 8, Issue 11. doi: <https://doi.org/10.5812/jjm.25250>
16. Antibacterial Activity and Morphological Changes of *Pseudomonas aeruginosa* Cells after Exposure to *Vernonia cinerea* Extract / Latha L. Y. et. al. // *Ultrastructural Pathology*. 2010. Vol. 34, Issue 4. P. 219–225. doi: <https://doi.org/10.3109/01913121003651513>
17. Страчунский Л. С., Белоусов Ю. Б., Козлов С. Н. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. Смоленск: МакМаХ, 2007. 464 с.

Дата надходження рукопису 17.05.2018

Дудикова Дарья Маратовна, младший научный сотрудник, Лаборатория фармакологии противомикробных средств, Институт фармакологии и токсикологии Национальной академии медицинских наук Украины, ул. Антона Цедика, 14, г. Киев, Украина, 03057
E-mail: darmardud@gmail.com

Врынчану Нина Алексеевна, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией, Лаборатория фармакологии противомикробных средств, Институт фармакологии и токсикологии Национальной академии медицинских наук Украины, ул. Антона Цедика, 14, г. Киев, Украина, 03057
E-mail: nvrynchanu@gmail.com

Войчук Сергей Иванович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Отдел физиологии промышленным микроорганизмов, Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины, ул. Академика Заболотного, 154, г. Киев, Украина, 03143
E-mail: svoychuk@hotmail.com