

ABSTRACT&REFERENCES

DOI: 10.15587/2519-8025.2024.325058

CHOLINE MONITORING TO ASSESS
INFLAMMATORY HEPATITIS

p. 4–10

Julija Razumiene, PhD, Chief Researcher, Institute of Biochemistry, Life Sciences Center, Vilnius University, Sauletekio ave., 7, Vilnius, Lithuania, LT-10257

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2191-8617>

Vidute Gureviciene, Master Degree in Biophysics, Biochemist, Institute of Biochemistry, Life Sciences Center, Vilnius University, Sauletekio ave., 7, Vilnius, Lithuania, LT-10257

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1123-3929>

Ieva Sakinyte-Urbikiene, PhD, Researcher, Institute of Biochemistry, Life Sciences Center, Vilnius University, Sauletekio ave., 7, Vilnius, Lithuania, LT-10257

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3707-9392>

Liubov Galuzinska, PhD, Associate Professor, Leading Researcher, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Microbiology and Biological Chemistry, National University of Pharmacy, Hryhoriia Skovorody str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002

E-mail: ljubvgaluzinskaja@ukr.net

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1512-7552>

Seniuk Igor, PhD, Associate Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Microbiology and Biological Chemistry, National University of Pharmacy, Hryhoriia Skovorody str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3819-7331>

Kravchenko Vira, Doctor of Biological Sciences, Professor Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Microbiology and Biological Chemistry, National University of Pharmacy, Hryhoriia Skovorody str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6335-2490>

Dmytro Lytkin, PhD, Educational and Scientific Institute of Applied Pharmacy, National University of Pharmacy, Hryhoriia Skovorody str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4173-3046>

The aim of the study is to create a rapid and reliable biosensor for determining choline in biological media.

Materials and methods. Choline oxidase (EC 1.1.3.17, 17 U/mg) from *Arthrobacter globiformis* was purchased from Sigma. Hydrogen peroxide (30 %, v/v aqueous solution), choline chloride, and bovine serum albumin (V fraction) (BSA) were obtained from Sigma. Glutaraldehyde 25 % was obtained from Merck KGaA. Semipermeable terylene membrane, 12 µm thickness, 0.4 µm diameter of pore were obtained from the Institute Joint Institute of Nuclear Research. The body fluid samples from mice were obtained from the National University of Pharmacy, Ukraine.

The layer consisting of 5 µL of a solution comprising ChOx, BSA, and glutaraldehyde was formed on the inner surface of the ring-fixed semipermeable terylene film (working area Ø2.4 mm) by creating a membrane. Subsequently, it was maintained at 4 °C for a period of 12 hours. The enzymatic membrane was mechanically affixed to the Pt electrode's surface, forming a biosensor. Chronoamperometric measurements were conducted with a custom-made potentiostat (Vilnius University, Life Sciences Centre, Institute of Biochemistry), utilizing a conventional three-electrode electrochemical cell comprising a platinum auxiliary electrode, a saturated Ag/AgCl reference electrode, and the biosensor as the working electrode.

To simulate inflammation, we recreated the model of acute toxic tetrachloromethane hepatitis. Hepatitis is an acute or chronic inflammation of the liver; caused by various factors: intoxication with household substances, poisons, drugs, alcohol, autoimmune, and infectious processes. To simulate inflammation, we recreated the model of acute toxic tetrachloromethane hepatitis by the method of O. V. Stefanov. The study was conducted at the Biomedical Research Laboratory of the Educational and Research Institute of Applied Pharmacy of the National University of Pharmacy.

Results. A reagentless amperometric choline biosensor was developed and characterized using the enzyme choline oxidase from *Arthrobacter globiformis* (ChOx). The biosensor showed rapid response, appropriate stability, and sensitivity to choline when acting in model and in real biologic media. Since choline is a product of esterase-catalyzed reactions, the activity of esterases can be evaluated via choline release. This study revealed the increased concentrations of choline in the samples of the model of acute toxic tetrachloromethane hepatitis compared to control animals.

Conclusions. The ChOx based biosensor is a reliable tool for the monitoring of choline in biological media, such as blood serum. The activity of esterases can be evaluated via choline release. Consequently, measured esterase activity by choline-type biosensors could serve as biomarkers for the assessment of hepatitis-type inflammation dynamics.

This is also highly relevant for the study of the pharmacological action of drugs with the expected anti-inflammatory effect
Keywords: choline biosensor, choline oxidase, esterase activity, hepatitis, inflammation monitoring

References

1. Alemany, M. (2024). The Metabolic Syndrome, a Human Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 25 (4), 2251. <https://doi.org/10.3390/ijms25042251>
2. Khan, S., Mahgoub, S., Fallatah, N., Lalor, P. F., Newsome, P. N. (2023). Liver Disease and Cell Therapy: Advances Made and Remaining Challenges. *Stem Cells*, 41 (8), 739–761. <https://doi.org/10.1093/stmcls/sxad029>
3. Hassan, G. S., Flores Molina, M., Shoukry, N. H. (2023). The multifaceted role of macrophages during acute liver injury. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1237042>
4. Michalik, M., Gładys, A., Czekaj, P. (2020). Differentiation of Cells Isolated from Afterbirth Tissues into Hepato-

cyte-Like Cells and Their Potential Clinical Application in Liver Regeneration. *Stem Cell Reviews and Reports*, 17 (2), 581–603. <https://doi.org/10.1007/s12015-020-10045-2>

5. Lam, L., Ilies, M. A. (2022). Evaluation of the Impact of Esterases and Lipases from the Circulatory System against Substrates of Different Lipophilicity. *International Journal of Molecular Sciences*, 23 (3), 1262. <https://doi.org/10.3390/ijms23031262>

6. Rossaint, J., Margraf, A. (2020). Inflammation und perioperative Organdysfunktion. *Der Anaesthesist*, 70 (1), 83–92. <https://doi.org/10.1007/s00101-020-00886-4>

7. Sreedhar, R., Watanabe, K., Arumugam, S. (2017). General Mechanisms of Immunity and Inflammation. *Japanese Kampo Medicines for the Treatment of Common Diseases: Focus on Inflammation*, 23–31. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809398-6.00003-2>

8. Rossaint, J., Margraf, A., Zarbock, A. (2019). Perioperative Inflammation. *Der Anaesthesist*, 68 (7), 421–427. <https://doi.org/10.1007/s00101-019-0596-9>

9. Macovei, L. A., Birsan, M., Teodor, V. I., Cristofor, A. C., Ioanid, N., Rezus, E. (2017). On the Role of Chemical and Molecular Biology in Inflammation Research. *Revista de Chimie*, 68 (4), 786–788. <https://doi.org/10.37358/rc.17.4.5553>

10. La Rosa, S. L., Lindstad, L. J., Westereng, B. (2023). Carbohydrate esterases involved in deacetylation of food components by the human gut microbiota. *Essays in Biochemistry*, 67 (3), 443–454. <https://doi.org/10.1042/ebc20220161>

11. Ukegawa, T., Komatsu, T., Minoda, M., Matsumoto, T., Iwasaka, T., Mizuno, T. et al. (2023). Thioester-Based Coupled Fluorogenic Assays in Microdevice for the Detection of Single-Molecule Enzyme Activities of Esterases with Specified Substrate Recognition. *Advanced Science*, 11 (10). <https://doi.org/10.1002/advs.202306559>

12. Petri, Y. D., Verresen, R., Gutierrez, C. S., Kojasoy, V., Zhang, E., Abularrage, N. S. et al. (2024). Mammalian Esterase Activity: Implications for Peptide Prodrugs. *Biochemistry*, 63 (20), 2580–2593. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.4c00446>

13. Fu, Q., Wang, Y., Yan, C., Xiang, Y. K. (2024). Phosphodiesterase in heart and vessels: from physiology to diseases. *Physiological Reviews*, 104 (2), 765–834. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2023>

14. Kilanowska, A., Ziłkowska, A. (2020). Role of Phosphodiesterase in the Biology and Pathology of Diabetes. *International Journal of Molecular Sciences*, 21 (21), 8244. <https://doi.org/10.3390/ijms21218244>

15. Sekaran, S., Vimalraj, S., Thangavelu, L. (2021). The Physiological and Pathological Role of Tissue Nonspecific Alkaline Phosphatase beyond Mineralization. *Biomolecules*, 11 (11), 1564. <https://doi.org/10.3390/biom11111564>

16. Haarhaus, M., Cianciolo, G., Barbuto, S., La Manna, G., Gasperoni, L., Tripepi, G. et al. (2022). Alkaline Phosphatase: An Old Friend as Treatment Target for Cardiovascular and Mineral Bone Disorders in Chronic Kidney Disease. *Nutrients*, 14 (10), 2124. <https://doi.org/10.3390/nu14102124>

17. Borza, R., Salgado-Polo, F., Moolenaar, W. H., Perakakis, A. (2022). Structure and function of the ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase (ENPP) family: Tidying up diversity. *Journal of Biological Chemistry*, 298 (2), 101526. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.101526>

18. Jo, M., Knapp, M., Boggs, D. G., Brimberry, M., Donnan, P. H., Bridwell-Rabb, J. (2023). A structure-function analysis of chlorophyllase reveals a mechanism for activity regulation dependent on disulfide bonds. *Journal of Biological Chemistry*, 299 (3), 102958. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.102958>

19. Ahmed, A. I., Abou-Taleb, K. A. A., Abd-Elhalim, B. T. (2023). Characterization and application of tannase and gallic acid produced by co-fungi of *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride* utilizing agro-residues substrates. *Scientific Reports*, 13 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-43955-5>

20. Hubbard, R. E., O'Mahony, M. S., Calver, B. L., Woodhouse, K. W. (2008). Plasma esterases and inflammation in ageing and frailty. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 64 (9), 895–900. <https://doi.org/10.1007/s00228-008-0499-1>

21. De Boer, D., Nguyen, N., Mao, J., Moore, J., Sorin, E. J. (2021). A Comprehensive Review of Cholinesterase Modeling and Simulation. *Biomolecules*, 11 (4), 580. <https://doi.org/10.3390/biom11040580>

22. Efremenko, E., Maslova, O., Stepanov, N., Ismailov, A. (2021). Using Cholinesterases and Immobilized Luminescent Photobacteria for the Express-Analysis of Mycotoxins and Estimating the Efficiency of Their Enzymatic Hydrolysis. *Toxins*, 13 (1), 34. <https://doi.org/10.3390/toxins13010034>

23. Břízová, A., Pitschmann, V. (2023). Simple Chemical and Cholinesterase Methods for the Detection of Nerve Agents Using Optical Evaluation. *Biosensors*, 13 (12), 995. <https://doi.org/10.3390/bios13120995>

24. Garmavy, H. M. S., Mohammed, A. A., Rashid, H. M., Mohammad, F. K. (2023). A meta-analysis of normal human blood cholinesterase activities determined by a modified electrochrometric method. *Journal of Medicine and Life*, 16 (1), 22–34. <https://doi.org/10.25122/jml-2022-0215>

25. Pradhan, B., Pandey, S., Niroula, A., Adhikari, N., Chapagain, N., Pradhan, S. (2023). Mean Cholinesterase Level among Organophosphorus Poisoning Patients Visiting the Emergency Department in a Tertiary Care Centre: A Descriptive Cross-sectional Study. *Journal of Nepal Medical Association*, 61 (257), 72–75. <https://doi.org/10.31729/jnma.7983>

26. Danaei, G.-H., Amali, A., Karami, M., Khorrami, M.-B., Riahi-Zanjani, B., Sadeghi, M. (2022). The significance of thymoquinone administration on liver toxicity of diazinon and cholinesterase activity; a recommendation for prophylaxis among individuals at risk. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 22 (1). <https://doi.org/10.1186/s12906-022-03806-8>

27. Bernhard, W., Raith, M., Shunova, A., Lorenz, S., Böckmann, K., Minarski, M. et al. (2022). Choline Kinetics in Neonatal Liver, Brain and Lung –Lessons from a Rodent Model for Neonatal Care. *Nutrients*, 14 (3), 720. <https://doi.org/10.3390/nu14030720>

28. Arshad, U., Zenobi, M. G., Tribulo, P., Staples, C. R., Santos, J. E. P. (2023). Dose-dependent effects of rumen-protected choline on hepatic metabolism during induction of fatty liver in dry pregnant dairy cows. *PLOS ONE*, 18 (10), e0290562. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0290562>

29. Sánchez, V., Baumann, A., Kromm, F., Yergaliev, T., Brandt, A., Scholda, J. et al. (2024). Oral supplementation of choline attenuates the development of alcohol-related liver disease (ALD). *Molecular Medicine*, 30 (1). <https://doi.org/10.1186/s10020-024-00950-4>

30. Kansakar, U., Trimarco, V., Mone, P., Varzideh, F., Lombardi, A., Santulli, G. (2023). Choline supplements: An update. *Frontiers in Endocrinology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1148166>

31. Abou-Hatab, K., Ganeshalingam, K., O'Mahony, M. S., Giurani, F., Patel, S., Woodhouse, K. (2001). The effect of community-acquired pneumonia on plasma esterases in older people. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 57 (1), 55–60. <https://doi.org/10.1007/s002280000259>

32. Razumiene, J., Leo, D., Gureviciene, V., Ratautas, D., Gaidukevic, J., Sakinyte-Urbikiene, I. (2023). L-Glutamate Biosensor for In Vitro Investigations: Application in Brain Extracts. *Chemosensors*, 11 (8), 418. <https://doi.org/10.3390/chemosensors11080418>

33. Makaras, T., Razumienė, J., Gurevičienė, V., Sauliūtė, G., Stankevičiūtė, M. (2022). Technical suitability and reliability of an in vivo and non-invasive biosensor-type glucose assessment as a potential biomarker for multiple stressors in fishes: an evaluation on Salmonids. *Environmental Science and Pollution Research*, 29 (27), 41187–41206. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-18546-y>

34. Stefanov, O. V. (2001). *Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv*. Kyiv: Avicena, 528.

35. Kozhemiakin, Yu. M., Khromov, O. S., Filonenko, M. A., Saifetdinova, H. A. (2002). *Naukovo-praktychni rekomendatsii z utrymannia laboratornykh tvaryn ta roboty z nymy*. Kyiv: Vyd. dim «Avitsena», 153–155.

36. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. (Text with EEA relevance) (2010). *Official Journal of the European Union*, L 276, 33–79.

37. Tămanoî, F. (2022). The enzymes second edition part 2. DNA Damage and Double Strand Breaks – Part B, 45–79. <https://doi.org/10.1016/bs.enz.2022.10.005>

38. Liu, Y., Zhang, J., Lu, X., Zhang, G.-R., Qi, K., Bai, Y., Qi, W. (2022). Highly efficient electroreduction of oxygen to hydrogen peroxide on carbon catalyst via electrode-electrolyte interface engineering. *Chemical Engineering Journal*, 444, 136665. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.136665>

39. Sui, W., Li, W., Zhang, Z., Wu, W., Xu, Z., Wang, Y. (2023). Efficient and durable electrochemical oxygen reduction to H₂O₂ in acidic media assisted through catalyst layer design. *Journal of Power Sources*, 556, 232438. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2022.232438>

40. Andani, A., Mellou, K., Dewda, P., Eeuwijk, J., Kasianos, G., Van Damme, P., Steffen, R. (2024). Evolution and Impact of Hepatitis A Epidemiology in Europe – Systematic Literature Review of the Last 20 Years. *Journal of Viral Hepatitis*, 32 (1). <https://doi.org/10.1111/jvh.14030>

DOI: 10.15587/2519-8025.2024.325076

ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF NEWLY SYNTHESISED ARYLACYCLIC AMINO ALCOHOLS AGAINST CLINICAL STRAINS OF ENTEROCOCCI

p. 11–18

Volodymyr Nastenka, Department Microbiology and Parasitology with the Basics of Immunology, Bogomolets Nation-

al Medical University, Tarasa Shevchenko blvd., 13, Kyiv, Ukraine, 01601

E-mail: encelad1991@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3329-1911>

Objective. The present work is devoted to the in vitro antimicrobial activity of newly synthesized aryl acyclic amino alcohols, namely, derivatives of alkyl (R-aryl) oxydialkyl ammonium salts against clinical strains of enterococci.

Materials and methods. The object of the study was 52 newly synthesized aryl acyclic amino alcohols, namely derivatives of quaternary salts of alkyl(aryloxyethoxy)dialkylaminopropanol, synthesized at the Institute of Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine. The antimicrobial activity was evaluated in vitro by agar diffusion and serial dilutions against the reference strain *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 and 25 clinical isolates. The efficacy of the compounds against clinical strains was evaluated by comparison with the activity of antimicrobial drugs.

Results. As a result of the screening against the reference strain, the compounds with the most pronounced antienterococcal activity were identified. The most active ones (Kc21, Kc14, Kc28, Kc13, Kp13) had retention zones of more than 14 mm. The MIC determination identified 10 most active compounds, the MIC of Kp10 and Kp19 against the reference strain was 0.58±0.10 µg/ml and 1.76±0.19 µg/ml. As for clinical strains, the compounds showed moderate activity, with MIC values ranging from 0.48 to 15.63 µg/ml, inhibiting a proportion of isolates at the level of ampicillin and vancomycin. All compounds outperformed the activity of tetracycline in inhibiting antibiotic-resistant strains. The antimicrobial effect of the studied substances was at the level of decamethoxin and significantly exceeded the activity of miramistin.

Conclusions. The study made it possible to identify the 10 most active compounds against the test microorganisms and to compare them with commercial antimicrobial drugs. The list of the most effective aryl acyclic amino alcohols is presented in the following list: Kp10, Kp19, Kp8, Kc2, Kp18, Kc23 Kc1, Kc3, Kc4, and Kc22. The data obtained indicate the prospects for further study of the antimicrobial properties of alkyl (R-aryl) oxydialkyl ammonium derivatives

Keywords: antibiotic resistance, *Enterococcus* spp., MIC, serial dilution method, antibiotics, antiseptics

References

1. Murray, C. J. L., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A. et al. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399 (10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(21)02724-0)

2. WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance (2024). WHO, 56. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376776/9789240093461-eng.pdf?sequence=1>

3. Weiner, L. M., Webb, A. K., Limbago, B., Dudeck, M. A., Patel, J., Kallen, A. J. et al. (2016). Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Health-

care Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011–2014. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 37 (11), 1288–1301. <https://doi.org/10.1017/ice.2016.174>

4. Antimicrobial resistance surveillance in Europe (2023). ECDC. <https://doi.org/10.2900/63495>

5. Demchenko, N., Suvorova, Z., Fedchenkova, Y., Shpychak, T., Shpychak, O., Bobkova, L., Demchenko, S. (2021). Synthesis and antibacterial activity of 3-arylamino-methyl-1-(2-oxo-2-arylethyl)-6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4] triazolo[4,3-a] azepin-1-ium bromides and aryl-(4-R1-phenyl-5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulen-1-yl-methyl)-amines. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 6 (34), 51–57. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2021.249480>

6. Rosa, W. C., Rocha, I. O., Rodrigues, M. B., Coelho, H. S., Denardi, L. B., Ledur, P. C. et al. (2020). Novel Alkyl(aryl)-Substituted 2,2-Difluoro-6-(trichloromethyl)-2H-1,3,2-oxazaborinin-3-ium-2-uides: Synthesis, Antimicrobial Activity, and CT-DNA Binding Evaluations. *Frontiers in Pharmacology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01328>

7. Baker, J. R., Cossar, P. J., Blaskovich, M. A. T., Elliott, A. G., Zuegg, J., Cooper, M. A. et al. (2022). Amino Alcohols as Potential Antibiotic and Antifungal Leads. *Molecules*, 27 (7), 2050. <https://doi.org/10.3390/molecules27072050>

8. Dronova, M. L. (2015). Doslidzhennia vplyvu pokhidnoho arylalkilatfatyfnnykh aminospirtiv KVM-194 na pronyknist membrany bakterii. *Medychni ta farmatsevtichni nauky*, 86–89

9. Korotkyi, Yu. V., Smertenko, O. A. (2013). Pat. No. 86109. Chetvertynni soli 1-[4-(1,1,3,3-tetrametylbutyl)fenoksy-

1-etoksy]-3-(N-alkildialkilamino)-2-propanolu. MKP C07D 213/00. No. u201308693; declared: 10.07.2013; published: 10.12.2013, Bul. No. 23.

10. Korotkyi, Yu. V., Smertenko, O. A. (2014). Pat. No. 93482. Chetvertynni soli 1-[(2,4-dytretbutyl)fenoksy-1-etoksy]-3-(N-alkildialkilamoniiu)-2-propanolu. MKP C07D 213/00. No. u201400149; declared: 10.01.2014; published: 10.10.2014, Bul. No. 19.

11. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (2021). Clinical and Laboratory Standards Institute.

12. Kowalska-Krochmal, B., Dudek-Wicher, R. (2021). The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens*, 10 (2), 165. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020165>

13. Balouiri, M., Sadiki, M., Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6 (2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>

14. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters (Version 14.0) (2024). The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Available at: <http://www.eucast.org>

15. Sydorchuk, L. I., Sydorchuk, R. I., Mikheyev, A. O., Dzhuryak, V. S., Sydorchuk, I. Y. (2022). Selection of decamethoxine resistant variants of microorganisms while using quaternary ammonium compounds under clinical conditions for 50 years (1972-2022). *Clinical and Experimental Pathology*, 21 (3), 13–19. <https://doi.org/10.24061/1727-4338.xxi.3.81.2022.02>

АНОТАЦІЇ

DOI: 10.15587/2519-8025.2024.325058

МОНІТОРИНГ ХОЛІНУ ДЛЯ ОЦІНКИ ЗАПАЛЬНОГО ГЕПАТИТУ (с. 4–10)

Julija Razumiene, Vidute Gureviciene, Ieva Sakinyte-Urbikienė, Л. В. Галузінська, І. В. Сенюк, В. М. Кравченко, Д. В. Литкін

Мета роботи – створення швидкого та надійного біосенсора для визначення холіну в біологічних середовищах.

Матеріали та методи. Холіноксидазу (EC 1.1.3.17, 17 Од/мг) з *Arthrobacter globiformis* було придбано у компанії Sigma. Перекис водню (30 %, водний розчин), холіну хлорид та бичачий сироватковий альбумін (V фракція) (BSA) були отримані від Sigma. Глутаральдегід 25 % був отриманий від Merck KGaA. Напівпроникну терилінову мембрану товщиною 12 мкм, діаметром пор 0,4 мкм було отримано з Об'єднаного інституту ядерних досліджень. Зразки біологічних рідин щурів були отримані в Національному фармацевтичному університеті, Україна.

Шар, що складався з 5 мкл розчину, який містив ChOx, BSA та глутаральдегід, формували на внутрішній поверхні закріпленої кільцем напівпроникної терилінової плівки (робоча зона Ø2,4 мм) шляхом створення мембрани. Згодом її витримували при 4 °C протягом 12 годин. Ферментативну мембрану механічно прикріплювали до поверхні платиногового електрода, утворюючи біосенсор. Хроноамперометричні вимірювання проводили за допомогою виготовленого на замовлення потенціостата (Вільнюський університет, Центр наук про життя, Інститут біохімії), використовуючи звичайну трьохелектродну електрохімічну комірку, що складається з платиногового допоміжного електрода, насиченого Ag/AgCl електрода порівняння та біосенсора в якості робочого електрода.

Для імітації запалення ми відтворили модель гострого токсичного тетрахлорметанового гепатиту. Гепатит - це гостре або хронічне запалення печінки, спричинене різними факторами: інтоксикацією побутовими речовинами, отрутами, ліками, алкоголем, аутоіммунними та інфекційними процесами. Для імітації запалення була відтворена модель гострого токсичного тетрахлорметанового гепатиту за методом О. В. Стефанова. Дослідження проведено на базі лабораторії медико-біологічних досліджень Навчально-наукового інституту прикладної фармації Національного фармацевтичного університету.

Результати. Розроблено та охарактеризовано безреагентний амперометричний біосенсор холіну з використанням ферменту холіноксидази з *Arthrobacter globiformis* (ChOx). Біосенсор показав швидкий відгук, відповідну стабільність і чутливість до холіну при дії в модельних і реальних біологічних середовищах. Оскільки холін є продуктом реакцій, що каталізуються естеразами, активність естераз можна оцінити за вивільненням холіну. У цьому дослідженні виявлено, що у зразках моделі гострого токсичного тетрахлорметанового гепатиту спостерігається підвищена концентрація холіну порівняно з контрольними тваринами.

Висновки. Біосенсор на основі ChOx є надійним інструментом для моніторингу холіну в біологічних середовищах, таких як сироватка крові. Активність естераз можна оцінити за вивільненням холіну. Отже, вимірювання активності естераз за допомогою біосенсорів холінового типу можуть слугувати біомаркерами для оцінки динаміки запалення при гепатитах.

Це також є актуальним для вивчення фармакологічної дії препаратів з очікуваним протизапальним ефектом

Ключові слова: холіновий біосенсор, холіноксидаза, естеразна активність, гепатит, моніторинг запалення

DOI: 10.15587/2519-8025.2024.325076

АНТИМІКРОБНІ ВЛАСТИВОСТІ НОВОСИНТЕЗОВАНИХ АРИЛ АЦИКЛІЧНИХ АМІНОСПИРТІВ ЩОДО КЛІНІЧНИХ ШТАМІВ ЕНТЕРОКОКІВ (с. 11–18)

В. Б. Настенко

Мета. Дана робота присвячена дослідженню *in vitro* антимікробної активності новосинтезованих арил ациклічних аміноспиртів, а саме похідних солей алкіл (R-арил) оксидиалкіл амонію проти клінічних штамів ентерококів.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження були 52 новосинтезовані арил ациклічні аміноспирти, а саме похідні четвертинних солей алкіл(арилоксиетокси)діалкіламінопропанолу, синтезовані в Інституті органічної хімії НАН України. Антимікробну активність оцінювали *in vitro* методом дифузії в агар та серійних розведень щодо референтного штаму *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 та 25 клінічних ізолятів. Оцінку ефективності сполук щодо клінічних штамів проводили шляхом порівняння з активністю антимікробних препаратів.

Результати. В результаті проведеного скринінгу щодо референтного штаму було визначено сполуки, що володіють найбільш вираженою антиентероковою активністю. Найактивніші (Kc21, Kc14, Kc28, Kc13, Kp13) мали зони затримки понад 14 мм. Визначення МІК виділило 10 найактивніших сполук, МІК Kp10 та Kp19 щодо референтного штаму становила $0,58 \pm 0,10$ мкг/мл та $1,76 \pm 0,19$ мкг/мл. Щодо клінічних штамів сполуки продемонстрували помірну активність, значення МІК яких варіювалися від 0,48 до 15,63 мкг/мл, що дорівнює інгібуючій ефективності ампіциліну та ванкоміцину. Усі сполуки перевершили активність тетрацикліну, інгібуючи і резистентні до цього ан-

тибіотику штами. Антимікробний ефект досліджуваних речовин був на рівні декаметоксину і значно перевищував активність мірамістину.

Висновки. Проведене дослідження дозволило виділити 10 найбільш активних сполук щодо тест-мікроорганізмів та провести порівняння з комерційними антимікробними препаратами. Перелік найбільш ефективних арил ациклічних аміноспиртів представлено наступним списком: Кр10, Кр19, Кр8, Кс2, Кр18, Кс23 Кс1, Кс3, Кс4 та Кс22. Отримані дані свідчать про перспективність подальших вивчення антимікробних властивостей похідних солей алкіл (R-арил) оксидиалкіл амонію

Ключові слова: антибіотикорезистентність, *Enterococcus spp.*, МІК, метод серійних розведень, антибіотики, антисептики