

ISSN 1561-8323 (Print)

ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 577.152.3:547.92

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2026-70-1-32-44>

Поступило в редакцию 21.08.2025

Received 21.08.2025

**Н. М. Литвинко, Д. О. Герловский, член-корреспондент И. А. Михайлопуло***Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси,  
ул. Купревича, 5/2, 220084, Минск, Республика Беларусь***ФОСФАТИДАЦИЛГИДРОЛАЗА КАК ФАКТОР ВИРУЛЕНТНОСТИ  
УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ  
В РЕАКЦИЯХ ГИДРОЛИЗА ЛИПОКОНЬЮГАТОВ**

**Аннотация.** Впервые в качестве субстратов фосфатацилгидролазы (фосфолипазы типа А) в реакциях фосфолиполиза исследованы фосфатидильные производные ряда нуклеозидов. Предложен и изучен новый пусковой механизм, инициирующий гибель патогенных и условно-патогенных микроорганизмов (клеток *Staphylococcus aureus* и *Candida* spp.), за счет их вирулентности, обеспечиваемой в том числе активностью собственных фосфолипаз типа А, под действием лекарственных форм антибиотиков (на основе ковалентно и нековалентно модифицированных липоконъюгатов) пуринового (неларабин, азотистое основание гуанин) и пиримидинового (бривудин, азотистое основание урацил) ряда, обладающих бактерицидным действием. В части устойчивости новых лекарственных форм к деструкции в пищеварительном тракте показано, что липоконъюгат бривудина наиболее подвержен гидролизу с участием панкреатической фосфолипазы А<sub>2</sub>, а липоконъюгат на основе неларабина отличается более высокой стабильностью к фосфолиполизу. Установлено, что поскольку скорость гидролиза липоконъюгатов неларабина и бривудина фосфолипазой А культуральной жидкости *Candida sake* и *Staphylococcus aureus* соответственно в 1,7 и 2 раза выше, чем фосфатацилхолина, они могут служить основой для создания биоцидосодержащих наноконтейнеров и облегчать за счет повышенной гидролизуемости доступность действующего вещества.

**Ключевые слова:** фосфатацилгидролаза, ингибиторы панкреатической фосфолипазы А<sub>2</sub>, липопроизводные неларабина и бривудина, гидролиз фосфолипидов

**Для цитирования.** Литвинко, Н. М. Фосфатацилгидролаза как фактор вирулентности условно-патогенных микроорганизмов в реакциях гидролиза липоконъюгатов / Н. М. Литвинко, Д. О. Герловский, И. А. Михайлопуло // Доклады Национальной академии наук Беларуси. – 2026. – Т. 70, № 1. – С. 32–44. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2026-70-1-32-44>

**Natalia M. Litvinko, Denis O. Gerlovsky, Corresponding Member Igor A. Mikhailopulo***Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus,  
5/2, Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus***PHOSPHATIDACYLHYDROLASE AS A VIRULENCE FACTOR OF OPPORTUNISTIC  
MICROORGANISMS IN LIPOCONJUGATE HYDROLYSIS REACTIONS**

**Abstract.** For the first time, phosphatidyl derivatives of a number of nucleosides were studied as substrates of phosphatidylacylhydrolase in phospholipolysis reactions. A new trigger mechanism has been proposed and studied that initiates the death of pathogenic and opportunistic microorganisms (*Staphylococcus aureus* and *Candida* spp. cells) due to their virulence, including the activity of their own type A phospholipases, under the action of medicinal forms of antibiotics (based on covalently and non-covalently modified lipoconjugates) of the purine (nelarabine, nitrogenous base guanine) and pyrimidine (brivudine, nitrogenous base uracil) series, which have a bactericidal effect. In terms of the resistance of forms to destruction in the digestive tract, it has been shown that brivudine lipoconjugates are most susceptible to hydrolysis with the participation of pancreatic phospholipase A<sub>2</sub>, while nelarabine-based lipoconjugate is characterized by higher stability to phospholipolysis. It has been established that, since the rate of hydrolysis of lipoconjugates of nelarabine and brivudine by phospholipase A of the culture fluid of *Candida sake* and *Staphylococcus aureus* is 1.7 and 2 times higher, respectively, than that of phosphatidylcholine, they can serve as a basis for the demonstration of biocide-containing conjugates and facilitate the availability of the active substance due to increased hydrolyzability.

**Keywords:** phosphatidacylhydrolase, pancreatic phospholipase A<sub>2</sub> inhibitors, lipo derivatives of nelarabine and brivudine, phospholipid hydrolysis

**For citation.** Litvinko N. M., Gerlovsky D. O., Mikhailopulo I. A. Phosphatidacylhydrolase as a virulence factor of opportunistic microorganisms in lipoconjugate hydrolysis reactions. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2026, vol. 70, no. 1, pp. 32–44 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2026-70-1-32-44>

**Введение.** Патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, как известно, в отличие от сапрофитов, обладают патогенностью, т. е. потенциальной, генетически обусловленной способностью вызывать заболевание. Патогенность – это качественный видовой признак, присущий всем бактериям данного вида. Для того чтобы вызвать заболевание, патогенный микроорганизм должен обладать еще одной характеристикой – вирулентностью, т. е. способностью проникать в макроорганизм, размножаться в нем и подавлять его защитные свойства, следствием чего является развитие инфекционной болезни. Вирулентность – признак не видовой, как патогенность, а присущий конкретному штамму микроорганизмов. Факторы вирулентности – это специфические молекулы, в первую очередь белки, которые производятся и выделяются бактериями, грибами, простейшими и вирусами. Эти факторы кодируются специфическими генами, расположенными на хромосоме или мобильных генетических элементах (например, плазидах или транспозонах) у бактериальных патогенов [1]. Известно, что липолитические ферменты, ответственные за гидролиз фосфолипидов и лизофосфолипидов [2], в том числе фосфолипазы А (ФЛА), играют важную роль в вирулентности и патогенности таких бактерий, как *Pseudomonas*, *Rickettsia*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Legionella*, *Helicobacter*, *Serratia*, *Mycobacterium* и грибов, например рода *Candida* [3], вызывающих тяжелые и даже смертельные инфекции. Собственные фосфатацидгидролазы (фосфолипазы, КФ 3.1.1), в частности, ФЛА, как факторы вирулентности, помогают бактериальным патогенам проникать в клетку-хозяина, разрушая фосфолипиды цитоплазматических мембран, а продукты такого гидролиза могут действовать как сигнальные молекулы, что в конечном итоге приводит к ряду событий, которые в дальнейшем используются патогеном и вызывает апоптоз (клеточную смерть).

Важность ФЛА для вирулентности патогенных видов микробов и их способность манипулировать иммунным ответом хозяина делают данные ферменты особенно интересными в контексте взаимодействия хозяина и паразита. В связи с этим внимание следует сконцентрировать на том, что фосфатацидгидролазы патогенных микроорганизмов, внедряющихся в организм в процессе болезни, могут разрушать не только клеточные мембраны самого макроорганизма, но и также фосфолипидный бислой липосом с включенным в их внутреннее пространство антибиотиком, который в таком случае может привести к самоуничтожению клетки бактерии за счет своего же фактора вирулентности в соответствии с приведенной схемой предлагаемой стратегии (рис. 1, 2).

В последнее время было обнаружено, что некоторые нуклеозиды наряду с противовирусным и противоопухолевым действием проявляют антибактериальную активность [4; 5]. Результаты этих исследований привлекли наше внимание, в том числе в контексте разработки фосфолипидных конъюгатов нуклеозидов и изучения их антимикробной активности в сравнении с исходным (не модифицированным) соединением, и, в дополнение к ранее полученным результатам. В настоящей работе мы исследовали антибактериальную активность известных лекарственных



Рис. 1. Рассматриваемая последовательность событий: предполагается, что по принципу обратной связи под действием ФЛА (клетки-хозяина) (фосфатацидгидролаза, верхняя стрелка) исследуемого микроорганизма (слева бактериальная клетка) при гидролизе фосфолипидной оболочки липидной везикулы антибиотик (сферы), находящийся внутри наноконтейнера или включенный в его структуру, выйдет наружу (нижняя стрелка) и уничтожит микроорганизм (малая стрелка и части разрушенной бактерии)

Fig. 1. The sequence of events under consideration: it is assumed that, according to the feedback principle, under the action of the PLA (host cell) (phosphatidacyl hydrolase, upper arrow) of the studied microorganism (bacterial cell on the left) during hydrolysis of the phospholipid membrane of the lipid vesicle the antibiotic (spheres), located inside the nanocontainer or included in its structure, will come out (lower arrow) and destroy the microorganism (small arrow and parts of the destroyed bacteria)

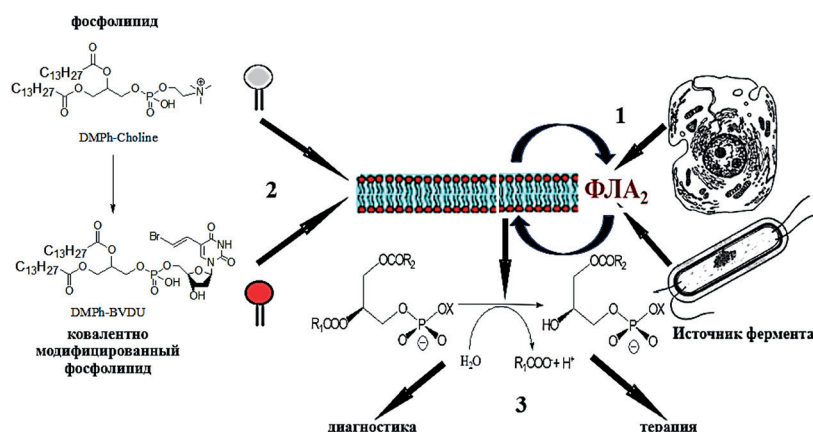


Рис. 2. Формирование бислоя из димиристоилфосфатидилхолина (DMPh-Choline) и ковалентно модифицированного нуклеозидом (бривудином) фосфолипида (DMPh-Brivudine) для дальнейшего определения субстратной специфичности по отношению к микробным фосфолипазам и создания моно- и бисустратных липосом, перспективных для энзимотерапии и энзимодиагностики (C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>-алкильный остаток миристиновой кислоты)

Fig. 2. Formation of a bilayer of dimyristoylphosphatidylcholine (DMPh-Choline) and a phospholipid (DMPh-Brivudine) covalently modified with a nucleoside (brivudine) for further determination of substrate specificity in relation to microbial phospholipases and the creation of mono- and bisubstrate liposomes promising for enzyme therapy and enzyme diagnostics (C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>-alkyl residue of myristic acid)

препаратов неларабин (2-амино-*O*<sup>6</sup>-метил-9-(β-D-арабинофуранозил)-пурин) [4] и бривудин ((*E*)-5-(2-bromovinyl)-2'-deoxyuridine) [5] по отношению к культурам *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Candida sake*, *Candida utilis*, *Chlorella asp.* и *Staphylococcus aureus*.

Проблема резистентности микроорганизмов к действию антибиотиков в виде таблеток и капсул стимулирует как поиск новых лекарственных форм известных препаратов, с одной стороны, так и установление более эффективных препаратов среди соединений новых классов – с другой [6]. В первую очередь мы обратили внимание на нуклеозиды, которые проявляют широкий спектр биологической активности, а также те из них, которые нашли широкое применение в качестве противоопухолевых и противовирусных препаратов (например, бривудин, рис. 2).

Цель данной работы – формирование новой стратегии, предусматривающей самоуничтожение микроорганизмов на примере *Staphylococcus aureus* и *Candida spp.* под действием конъюгированных с димиристоилфосфатидилхолином биоцидных нуклеозидов бривудина и неларабина при их локальном высвобождении с участием микробных факторов вирулентности – фосфолипаз типа А (ФЛА).

**Материалы и методы исследования.** В качестве наноконтейнеров на основе надмолекулярных форм организации липоконъюгатов биоцидных нуклеозидов (пролекарств) выбраны бислоенные липосомы и монослойные смешанные мицеллы липонуклеозид-детергент, которые обеспечивают за счет фосфолипидной составляющей наилучший контакт с биомембранами (рис. 2).

Мишенью для предложенных форм пролекарств являются культуры клеток дрожжеподобных грибов рода *Candida* (*C. spp.*), а также *Staphylococcus aureus*, представляющих собой условно-патогенные и патогенные микроорганизмы, которые в определенных условиях, способствующих их бурному размножению, приводят к развитию достаточно распространенных для Республики Беларусь патологий. Неконтролируемое размножение данных микроорганизмов может привести к сепсису, эндокардиту, эндофтальмиту, менингиту, остеомиелиту и другим нежелательным болезням слизистых оболочек и кожи. Триггером для активации пролекарств и последующей гибели условно-патогенных микроорганизмов, как уже упоминалось, служит их собственная фосфатацилгидролаза (фосфолипаза типа А).

В работе используют препарат культуральной жидкости микроорганизмов *C. spp.* и *Staphylococcus aureus* (из коллекции кафедры микробиологии Белгосуниверситета), содержащий активную форму ФЛА, коммерческий препарат ФЛА<sub>2</sub> поджелудочной железы свиньи (Sigma, P6534), 1,2-димиристоилфосфатидилхолин (ДМФХ, DMPh-холин, Chem-Imprex, Sigma-Aldrich, США), Трис и ЭДТА (Serva, Германия). Остальные реактивы были производства фирмы «Реахим» (Россия).

Все органические растворители перед использованием очищают перегонкой. Фармакологически важные препараты неларабин [7] и бривудин [5; 8], а также их фосфатидильные конъюгаты<sup>1</sup>, индивидуальность и структура которых подтверждена ВЭЖХ (хроматограф Waters, США), УФ- (Specord M-400, Карл Цейс, Германия) и Н-ЯМР-спектроскопией, синтезированы в лаборатории химии нуклеотидов и полинуклеотидов Института биоорганической химии НАН Беларуси и лаборатории молекулярной биотехнологии Института микробиологии НАН Беларуси в рамках совместных исследований при выполнении отдельного проекта фундаментальных и прикладных научных исследований НАН Беларуси (ПБП №116-12-032019).

Хроматографически гомогенный фосфатидилхолин (ФХ) выделяют из желтков куриных яиц [9] и хранят в хлороформе при  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  в запаянных ампулах в атмосфере азота.

Культивирование *C. spp.* и *Staphylococcus aureus* проводят на биологической качалке (вращение 180 об/мин) при 28 и 37  $^{\circ}\text{C}$  соответственно, в течение 24 ч в 250 мл колбах Эрленмейера, содержащих 100 мл питательной среды (Сабуро и пептонно-дрожжевой бульон соответственно) с исходным рН 7,1. Посевным материалом служит 18-часовая культура в количестве 5–10 об. %. Биомассу отделяют путем фильтрования.

Смешанные мицеллы готовят включением ФХ в фазу поверхностно-активного вещества – тритона X100 или дезоксихолата натрия (при оптимальном соотношении 1 : 3) после удаления растворителя из раствора ФХ в хлороформе.

Для получения липосом к пленке фосфолипида добавляют буферный раствор трис-НСI (0,05 М, рН 8) при 25  $^{\circ}\text{C}$  и интенсивно встряхивают, при этом происходит образование многослойных липосом. Далее полученные липосомы обрабатывают ультразвуком 5 раз по 30 с с перерывом в 1 мин с помощью УЗДН-2Т (22 кГц, 20 МА) для получения малых однослойных везикул.

Реакцию гидролиза фосфолипида (липоконъюгата) в ламеллярной и мицеллярной формах инициируют добавлением панкреатической фосфолипазы А<sub>2</sub> (фосфолипазы культуральной жидкости микроорганизма) к готовым липосомам (1 мкмоль/мл) или смешанным мицеллам ДМФХ (DMPh-холин) (0,5 мкмоль/мл) и дезоксихолатом натрия (1,5 мкмоль/мл) в Трис-НСI буферном растворе, рН 8, с CaCl<sub>2</sub> (10 мкмоль/мл). На определенном промежутке времени – через 5, 20 и 40 мин – останавливают реакцию путем добавления 850 мкл смеси, состоящей из 500 мкл раствора хлороформ : метанол (2 : 1) и 350 мкл ЭДТА (насыщенный водный раствор).

Визуализацию фосфолиполиза проводят после разделения образцов с помощью метода ТСХ. Для этого раствор после остановки реакции встряхивают на миксере ВП, центрифугируют на центрифуге ОПн-ЗУХЛ 4.2 при 1500 об/мин в течение 1 мин и отбирают нижнюю фракцию, содержащую липиды, продукты липолиза и хлороформ.

Нижнюю фракцию высушивают под вакуумом до образования липидной пленки, добавляют к ней 50 мкл хлороформа. Фосфолипид и лизофосфолипид разделяют при помощи ТСХ (алюминиевые пластины ТСХ, покрытые силикагелем 60 F254; система растворителей хлороформ : метанол : аммиак (10 %) – 8,5 : 3,5 : 0,4 (для липоконъюгатов) и хлороформ : метанол : вода – 65 : 25 : 4 по объему (для холин-содержащих фосфолипидов). Проявляют хроматограмму реактивом Васьковского [10]. Окрашенные зоны вырезают, добавляют HClO<sub>4</sub> (0,3 мл, 72 %), минерализуют в течение 20 мин при 180  $^{\circ}\text{C}$  на песчаной бане и анализируют в них содержание фосфора с помощью рабочего реактива Васьковского. В качестве контроля используют силикагель из зон, не содержащих фосфолипиды. Измерения проводят на спектрофотометре Solar PV 1251 С.

<sup>1</sup> Патент ВУ 23571. Способ получения 1,2-димиристоилглицерофосфат-5-(2-бромвинил)-2'-дезоксигуанидина: № а20200213: заявлено 27.07.2020: опубл. 30.12.2021 / Зинченко А. И., Биричевская Л. Л., Винтер М. А., Литвинко Н. М., Герловский Д. О.; заявитель: Институт микробиологии НАН Беларуси; Институт биоорганической химии НАН Беларуси; Патент ВУ 23840. Ферментативно модифицированный 1,2-димиристоилглицерофосфат-клофарабин, устойчивый к действию панкреатической ФЛА2: № а 20200378: заявлено 23.12.2020: опубл. 30.10.2022 / Зинченко А. И., Биричевская Л. Л., Винтер М. А., Литвинко Н. М., Герловский Д. О.; заявитель: Институт биоорганической химии НАН Беларуси; Патент ВУ 24190. Способ апробации субстратных свойств модифицированного клофарабина по отношению к панкреатической фосфолипазе А2: № а 202220176; заявлено 23.12.2020: опубл. 28.02.2024 / Зинченко А. И., Биричевская Л. Л., Винтер М. А., Литвинко Н. М., Герловский Д. О.; заявитель: Институт биоорганической химии НАН Беларуси.

Степень гидролиза ФХ (липоконъюгата) выражают в процентах, как отношение образовавшегося продукта реакции (лизофосфолипида) к суммарному количеству лизофосфолипида и негидролизованного фосфолипида, определенного по содержанию липидного фосфора, активность ФЛА выражают в мкмоль образовавшегося продукта в мин на мг белка. Измерения проводят в 2–3 повторностях. Активность микробных фосфолипаз определяют после культивирования клеток *C. spp.* и *Staphylococcus aureus* в жидких питательных средах (Сабуро и пептонно-дрожжевой бульон соответственно), в присутствии липосом из ФХ с включенным во внутреннее пространство неконъюгированным неларабином и бривудином (концентрация фосфолипидов 1 мкмоль/мл, нуклеозидов 1 мкмоль/мл,  $\text{Ca}^{2+}$  10 мкмоль/мл), или сформированных из их конъюгатов с ФХ (1 мкмоль/мл) и выражают в мкмоль образовавшегося лизоФХ в мин на мл культуральной жидкости. Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) устанавливают по наименьшему количеству липоконъюгата, приводящему к полному отсутствию КОЕ (число колониеобразующих единиц), при высеве на твердые питательные среды, и выражают в мкмоль на мл культуральной жидкости. Для исследования антимикробной активности применяют метод диффузии вещества в агарозный гель с использованием дисков фильтровальной бумаги. В качестве контроля используют растворитель – физиологический раствор, либо 50 %-ный раствор диметилсульфоксида. Исследуемые вещества вносят в количестве 5–10 мкмоль. Чашки Петри с *Staphylococcus aureus* и *C. spp.* после добавления исследуемых веществ инкубируют в термостате при 28 °С в течение 24 ч [11].

**Результаты и их обсуждение.** Аналоги природных компонентов нуклеиновых кислот, в частности нуклеозиды, представляют собой практически важное для медицины семейство противовирусных и противоопухолевых лекарственных препаратов [12; 13]. Лекарства на основе модифицированных нуклеозидов и нуклеотидов играют значительную роль в химиотерапии онкологических и вирусных заболеваний [14]. Среди них имеются как давно известные и хорошо зарекомендовавшие себя (5-фторуридин, 2-хлор-2'-дезоксиаденозин, 2-фтораденин-арабинозид, азидотимидин, виразол (рибавирин) [15] и др.), так и более новые терапевтические агенты (клофарабин, софосбувир, неларабин [16; 17] и др.) в следующих лекарственных формах – таблетках и капсулах. Однако в ряде случаев эти препараты имеют выраженные недостатки и побочные эффекты, такие как низкая биодоступность, высокая токсичность, быстрый катаболизм в русле крови до неактивных соединений и др.

В связи с этим особую значимость приобретает повышение терапевтической эффективности нуклеозидных лекарственных препаратов за счет разработанного энзиматического синтеза конъюгатов нуклеозидов с фосфолипидами, резистентных к разрушению под действием панкреатических фосфолипаз. Фосфолипидный «якорь» таких химерных соединений способствует проникновению биологически активного нуклеозида через клеточную мембрану. Схема энзиматического синтеза с помощью фосфолипазы D липоконъюгатов и их превращения при метаболизме представлена на рис. 3.

Липоконъюгаты нуклеозидов полностью ассоциированы с внутренней средой организма человека и доставляют нуклеозид в различные клетки, в том числе лимфатические узлы. Данные конъюгаты являются эффекторами по отношению к ферментам метаболизма, и в первую очередь фосфолиполиза, поскольку представляют собой модифицированные фосфолипиды. Первая стадия превращений данных соединений при метаболизме в организме человека заключается в расщеплении молекулы конъюгата под действием панкреатической фосфолипазы  $A_2$  (ФЛА<sub>2</sub>, КФ 3.1.1.4) при пищеварении [18], либо при активации вблизи опухолевой клетки, где также функционирует упомянутый фермент.

В предварительных исследованиях нами установлено, что бактерицидный эффект пуриновых и пиримидиновых нуклеозидов в составе липоконъюгатов зависит не только от химической структуры нуклеозидов, но и от формы упаковки фосфолипидных производных в мицеллах или липосомах как наноконтейнерах для таких пролекарств. Ранее нами показано, что микроорганизмы *Serratia marcescens*, *Salmonella typhi*, *Candida sake*, *Staphylococcus aureus* обладают фосфолипазной активностью и проявляют различную специфичность к нейтральным и заряженным фосфолипидам [19].

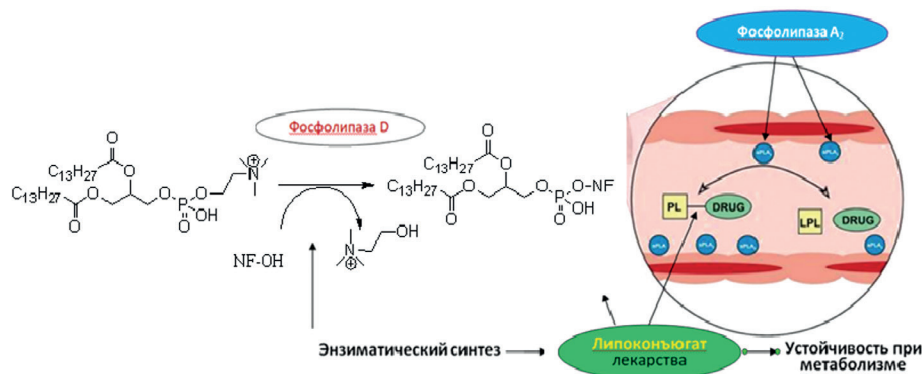


Рис. 3. Фосфолипаза D, кроме реакции гидролиза, способна переносить фосфатидильный остаток фосфолипида на первичную или, в особых условиях, на вторичную спиртовую группу большого числа соединений – реакция трансфосфатидилирования, в результате которой в присутствии нуклеозида, обладающего противоопухолевой или противовирусной активностью, образуется липоконъюгат лекарства (энзиматический синтез, левая реакция):  $C_{13}H_{27}$  – алкильный остаток миристиновой кислоты, NF – нуклеозидный фрагмент. Метаболизм (правая часть схемы): PL-DRUG – липонуклеосид, PL – фосфолипидный (фосфатидильный) остаток, LPL – лизолипид, sPLA<sub>2</sub> – фосфолипаза A<sub>2</sub>, которая разрушает при пищеварении липоконъюгат до лизопроизводного

Fig. 3. Phospholipase D, in addition to the hydrolysis reaction, is capable of transferring the phosphatidyl residue of a phospholipid to the primary or, under special conditions, to the secondary alcohol group of a large number of compounds - the transphosphatidylation reaction, as a result of which, in the presence of a nucleoside with anti-cancer or antiviral activity, a liponucleoside of the drug is formed (enzymatic synthesis, left reaction):  $C_{13}H_{27}$  is the alkyl residue of myristic acid, NF is the nucleoside fragment. Metabolism (right part of the diagram): PL-DRUG is a liponucleoside, PL is a phospholipid (phosphatidyl) residue, LPL is a lysolipid, sPLA<sub>2</sub> is phospholipase A<sub>2</sub>, which destroys the liponucleoside during digestion to a lyso derivative

Мы полагаем, что изучение на первой стадии исследования гидролиза под действием панкреатической фосфолипазы A<sub>2</sub> липоконъюгатов нуклеозидов позволит выявить их устойчивость к деструкции при пищеварении и определить кандидатов для формирования новых лекарственных форм в виде наноконтейнеров на основе бактерицидных нуклеозидов и фосфолипидов. Параллельно целесообразно провести скрининг биоцидной активности нуклеозидов с различными заместителями в углеводном фрагменте или азотистом основании. Это даст возможность найти наиболее активные в антимикробном действии нуклеозиды и провести именно их модификацию фосфолипидами. На следующем этапе работы логично апробировать антимикробную активность синтезированных липоконъюгатов нуклеозидов (в сравнении с исходным нуклеозидным компонентом) по отношению к выбранным микробным агентам. На завершающей стадии установление специфичности бактериальных липолитических ферментов к отобранным кандидатам для обеспечения высвобождения действующего вещества из состава надмолекулярных форм организации их липидной части позволит установить способность собственных фосфатацил-гидролаз микроорганизмов служить триггером активации такого рода пролекарств, с последующим возникновением локального антимикробного эффекта вблизи клеток патогена.

*Определение устойчивости липоконъюгатов нуклеозидов к разрушению пищеварительными фосфолипазами.* Для обеспечения сохранения целостности наноконтейнера при прохождении через внутреннее пространство в организме и подбора наиболее оптимального его состава определяют устойчивость липоконъюгированных нуклеозидов к действию панкреатической ФЛА<sub>2</sub>. Известно, что панкреатическая ФЛА<sub>2</sub> специфична к отрицательному заряду межфазной поверхности [2], поскольку для осуществления пищеварения, в процессе которого в организме млекопитающих гидролизуются фосфолипиды, происходит эмульгирование пищи желчными кислотами, в том числе дезоксихолатом натрия, используемым в данной работе для создания монослойных лекарственных форм – смешанных мицелл с фосфолипидами.

В качестве субстратов ФЛА<sub>2</sub> исследованы димиристоилфосфатидилбривудин (DMPh-бривудин), димиристоилфосфатидилнеларабин (DMPh-неларабин), димиристоилфосфатидилбромурин (DMPh-бромурин), димиристоилфосфатидилхолин (DMPh-холин) в составе смешанных мицелл с дезоксихолатом натрия, придающим отрицательный заряд везикуле. Обнаружен

выраженный ингибирующий эффект реакции в случае липоконъюгатов неларабина и бромуридина: по сравнению с ФХ степень гидролиза этих синтетических липонуклеозидов значительно снижена (в 1,5 и 5 раз соответственно) на всем временном промежутке реакции с 10 до 60 мин. Что касается димиристоилфосфатидилбривудина, то его гидролиз практически не отличается от исходной, холинсодержащей формы фосфолипида (рис. 4).

Для сравнительного анализа в последующих исследованиях антимикробной активности *in vitro* были выбраны конъюгаты DMPH-бривудина, как наиболее подверженного гидролизу с участием панкреатической ФЛА<sub>2</sub>, и DMPH-неларабина, как наиболее стабильного конъюгата, нуклеозидные компоненты которых, как было показано ранее, подавляют рост микроорганизмов. Следует отметить, что субстратные свойства конъюгатов DMPH-неларабина и DMPH-бривудина по отношению к панкреатической ФЛА<sub>2</sub> до наших исследований описаны не были.

**Определение биоцидной активности липоконъюгатов нуклеозидов.** Скрининг биоцидной активности нуклеозидов проводят с использованием диско-диффузионного метода в присутствии эффектора, с последующим измерением зон задержки роста бактерий на твердой питательной среде. Наиболее активные нуклеозиды, с точки зрения антимикробного эффекта, модифицировали липидным компонентом (фосфатидовой кислотой), для получения конъюгатов и последующего изучения их субстратных свойств по отношению к микробным фосфолипазам, а также антимикробной активности.

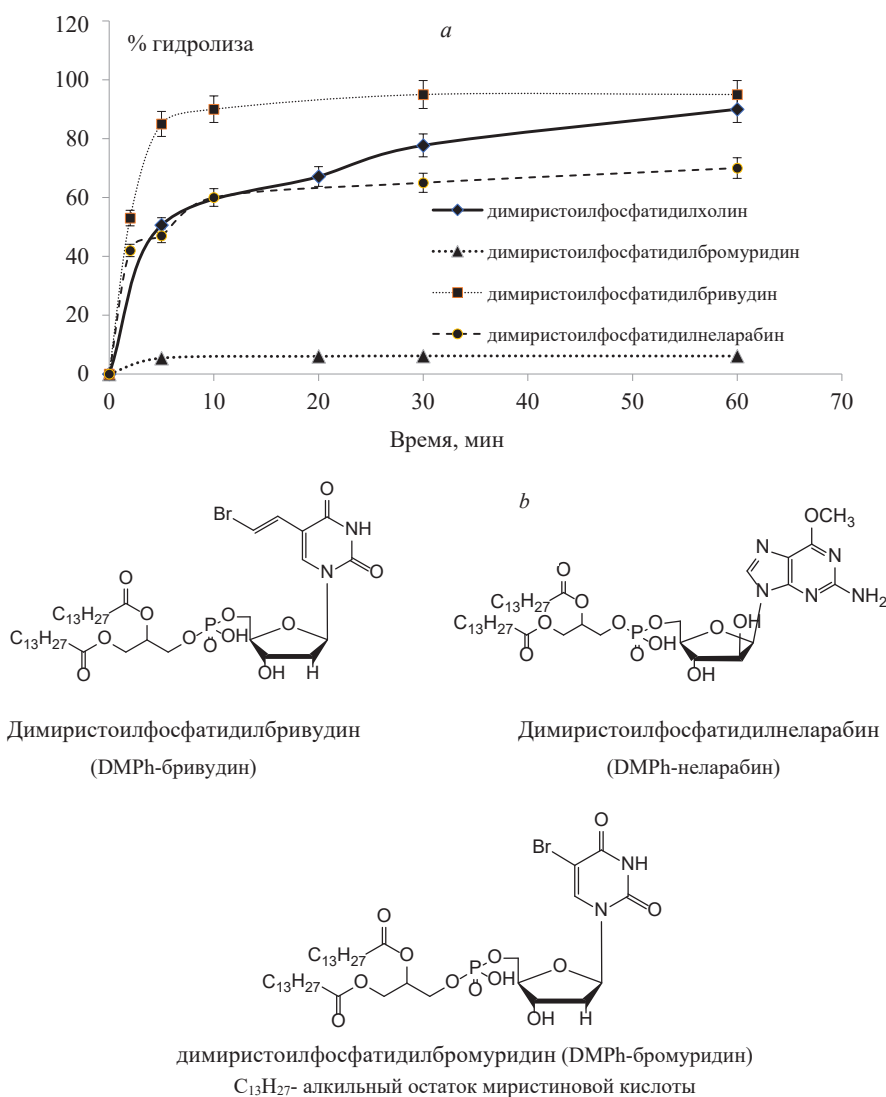
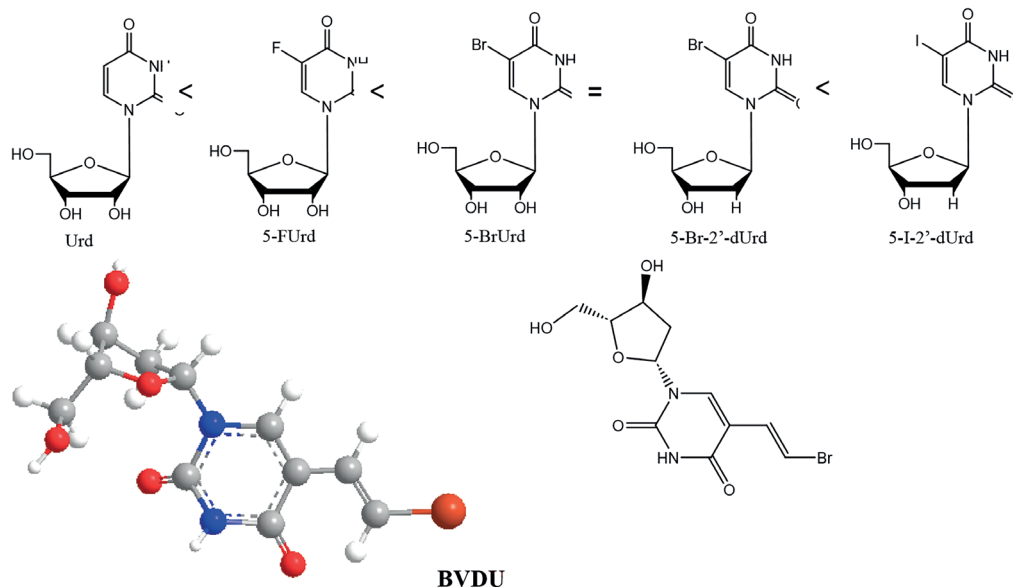


Рис. 4. Зависимость степени гидролиза липонуклеозидов под действием панкреатической ФЛА<sub>2</sub> от времени реакции

Fig. 4. Dependence of the degree of hydrolysis of liponucleosides under the action of pancreatic PLA<sub>2</sub> on the reaction time

Изучение антимикробной активности производных уридина показало, что модификация заместителем 5-го положения пиримидинового кольца уридина (Urd) приводит к появлению биологической активности производного, спектр которой расширяется при увеличении размера введенного заместителя (I – йод, Br – бром, F – фтор), как показано на схеме:



Так, введение атома фтора в 5 положение пиримидинового кольца уридина приводит к появлению антимикробной активности в отношении грибов рода *Candida*, спектр которой расширяется при использовании брома в качестве заместителя (*Candida sake*, *Candida utilis*, *Chlorella* sp.), причем удаление гидроксильной группы у 2'-атома углерода (5-BrUrd и 5-Br-2'-dUrd) не приводит к изменению биологической активности, что подтверждает вывод, сделанный выше. Максимальный спектр биологической активности проявил бривудин (BVDU) в отношении тест-культур *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Candida sake*, *Candida utilis*, *Chlorella* sp.

Изучение биологической активности производных аденозина показало сходную, как и в случае производных уридина, зависимость увеличения спектра биологической активности нуклеозида от его модификации у C2'-атома углеводного остатка и 2-атома углерода пуринового гетероцикла. Модификация заместителя у C2'-атома углерода приводит к появлению биологической активности, максимальный спектр которой наблюдается у 2'-дезоксидезокси-2'-фтораденозина (активен в отношении тест-культур *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Candida sake*, *Candida utilis*). Модификация второго атома пуринового кольца аденозина также приводит к появлению биологической активности, спектр которой расширяется при увеличении размера заместителя галогена, так кладрибин активен в отношении тест-культур *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Chlorella* sp., *Candida utilis*. Одновременная модификация C2'- и C2-атомов углерода аденозина приводит к полному изменению биологической активности, с потерей активности по отношению ко всем ранее чувствительным штаммам микроорганизмов и приобретению активности в отношении одноклеточных водорослей (клофарабин).

В качестве тест-культур для исследований антимикробной активности синтезированных липоконъюгатов (в сравнении с исходным нуклеозидным компонентом) выбраны штаммы *Staphylococcus aureus* (проявившего, как установлено ранее, чувствительность к исходному препарату бривудина) и *Candida sake* (в отношении которого ранее была показана антимикробная активность неларабина). Из димиростоилфосфатидильных производных бривудина и неларабина сконструированы наноконтейнеры различной формы и состава путем включения действующего вещества внутрь липидных везикул (нековалентная модификация) и образования энзиматически конъюгированного химерного соединения нуклеозида с димиростоилфосфатилхолином (ковалентная модификация). Фосфатидильные производные неларабина и бривудина синтезированы энзиматическим методом впервые в Институте микробиологии НАН Беларуси.

Таким образом, для исследования антимикробного действия был сформирован ряд нетрадиционных фосфолипид содержащих лекарственных форм: однослойных (смешанные мицеллы липоконъюгатов (1 мкмоль/мл) с детергентом (3 мкмоль/мл)) и двухслойных (липосомы из димиристоилфосфатидилхолина (1 мкмоль/мл) с включенным внутрь нуклеозидом (1 мкмоль/мл)), одно-субстратные липосомы исключительно из липоконъюгатов (1 мкмоль/мл) двухсубстратные липосомы, содержащие липоконъюгат (1 мкмоль/мл) и димиристоилфосфатидилхолин (1 мкмоль/мл).

На рис. 5, а показана относительная скорость роста культуры *Staphylococcus aureus* во времени в присутствии исследуемых препаративных форм бривудина в сравнении с размножением клеток в отсутствие эффектора (контроль, физиологический раствор). Контрольные значения концентрации микробных клеток при росте в отсутствие бривудина и его липидных препаратов на основе конъюгатов для определенных промежутков времени были приняты за единицу (верх-

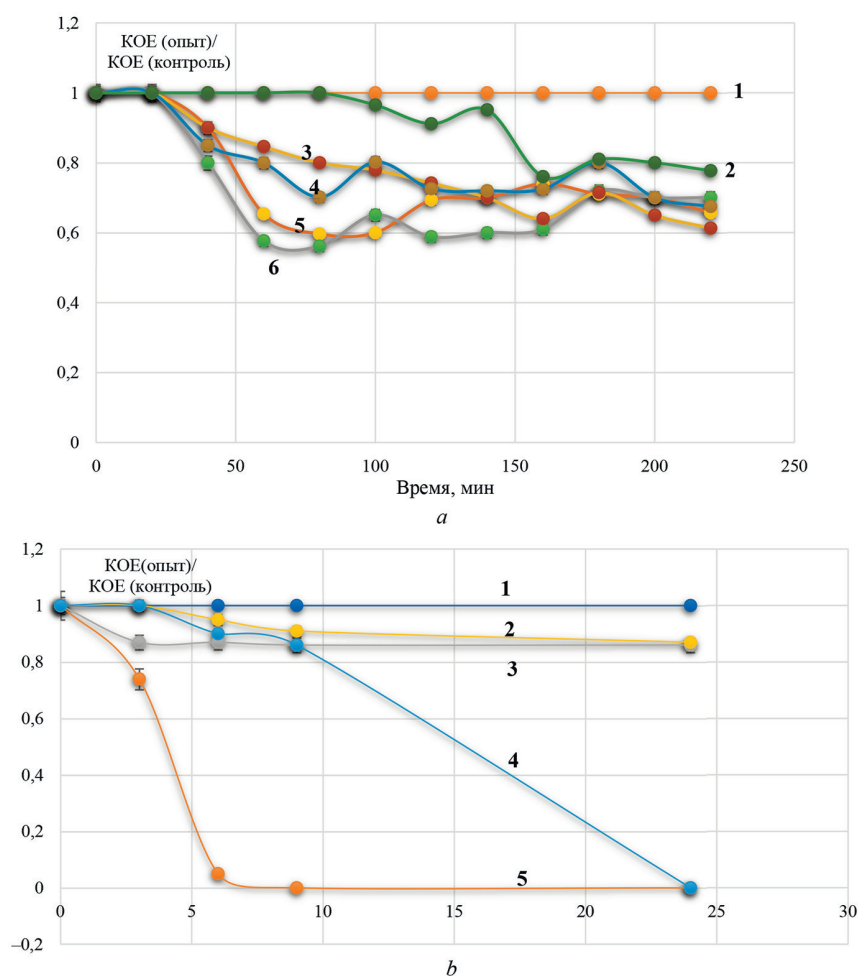


Рис. 5. Относительная скорость роста клеток: а – *Staphylococcus aureus* в присутствии и отсутствие различных препаративных форм пролекарств на основе бривудина: 1 – физиологический раствор (контроль), 2 – BVDU, 3 – липосомы (димиристоилфосфатидилбривудин : фосфатидилхолин – 1 : 1), 4 – липосомы (бривудин во внутреннем пространстве липосом из димиристоилфосфатидилхолина), 5 – мицеллы димиристоилфосфатидилбривудин : тритон X-100 – 1 : 3), 6 – липосомы (димиристоилфосфатидилбривудин); б – *Candida* spp. в присутствии и отсутствие различных препаративных форм пролекарств на основе неларабина: 1 – физиологический раствор (контроль), 2 – липосомы (димиристоилфосфатидилнеларабин), 3 – липосомы (неларабин во внутреннем пространстве), 4 – мицеллы (димиристоилфосфатидилнеларабин : тритон X-100 – 1 : 3), 5 – неларабин

Fig. 5. Relative cell growth rate: а – *Staphylococcus aureus* in the presence and absence of various formulations of brivudine-based prodrugs: 1 – saline (control), 2 – BVDU, 3 – liposomes (dimyristoylphosphatidylbrivudine : phosphatidylcholine – 1 : 1), 4 – liposomes (brivudine in the interior of dimyristoylphosphatidylcholine liposomes), 5 – dimyristoylphosphatidylbrivudine : Triton X-100 micelles – 1 : 3), 6 – liposomes (dimyristoylphosphatidylbrivudine); б – *Candida* spp. in the presence and absence of various formulations of nelarabine-based prodrugs: 1 – saline (control), 2 – liposomes (dimyristoylphosphatidylnelarabine), 3 – liposomes (nelarabine in the inner space), 4 – micelles (dimyristoylphosphatidylnelarabine : Triton X-100 – 1 : 3), 5 – nelarabine

няя прямая), относительно которой отмечен рост клеток в присутствии фосфолипидных контейнеров, содержащих антибиотик, с разной структурой поверхности раздела фаз.

Из представленных данных можно наблюдать снижение числа клеток *Staphylococcus aureus* на 30 % спустя три часа инкубации при добавлении раствора исходного нуклеозида бривудина (BVDU). Липосомальная форма, полученная путем конструирования наночастиц из димиристоилфосфатидилбривудина (DMPH-BVDU) с димиристоилфосфатидилхолином (DMPH-холин) в молярном отношении 1 : 1, подавляет скорость роста бактерий практически в два раза в течение первого часа инкубации. Отсутствие значимой разницы в бактерицидном действии липосом, сформированных исключительно из ковалентно модифицированного бривудина, т. е. конъюгата DMPH-BVDU и его исходной формы, включенной в липосомы из DMPH-холина, может свидетельствовать о сходном механизме действия – усилении эффекта последнего за счет облегчения проникновения через липидный бислой, либо локального увеличения концентрации BVDU непосредственно возле клетки за счет выделения последними различного типа фосфолипаз.

Для исследования антимикробного действия производных неларабина в отношении культуры *Candida spp.* был сформирован также ряд нетрадиционных фосфолипид содержащих лекарственных форм: однослойных (смешанные мицеллы липоконъюгатов (1 мкмоль/мл) с детергентом (3 мкмоль/мл)) и односубстратные липосомы исключительно из липоконъюгатов (1 мкмоль/мл). Чтобы исключить влияние дополнительного заряда для формирования наноконтейнеров из смешанных мицелл с липоконъюгатом использовали нейтральный детергент тритон-X-100.

На рис. 5, *b* представлена относительная скорость роста культуры *Candida spp.* во времени в присутствии исследуемых препаративных форм неларабина в сравнении с размножением клеток в отсутствие эффекторов (по отношению к контролю, физиологический раствор).

Контрольные значения концентрации микробных клеток при росте в отсутствие неларабина и его конъюгатов в составе различных надмолекулярных форм организации субстрата для определенных промежутков времени были приняты за единицу (верхняя прямая), относительно которой отмечен рост клеток в присутствии фосфолипидных контейнеров (содержащих антибиотик) с разной структурой поверхности раздела фаз. Число колониеобразующих единиц (КОЕ) на мл культуры *Candida spp.* определяет число клеток, которые способны сформировать полноценную жизнеспособную колонию в присутствии различных препаративных форм противоопухолевого препарата неларабина, конъюгированного с димиристоилфосфатидилхолином (DMPH-неларабина). Показано, что при культивировании *Candida spp.* в жидких питательных средах в присутствии липосом с включенным во внутреннее пространство неконъюгированным неларабином количество жизнеспособных клеток по сравнению с контролем (через 24 ч) составляло 87 % контроля. Липоконъюгаты DMPH-неларабина вызывали снижение числа жизнеспособных клеток только спустя 9 ч культивирования. Количество жизнеспособных клеток *Candida spp.* в присутствии липосом DMPH-неларабина через 9 и 24 ч составило 90,8 и 87,2 % от контроля соответственно. Для формирования однослойных мицеллярных лекарственных форм неларабина использовали в качестве детергента нейтральный тритон X-100, чтобы исключить влияние заряда. При культивировании в присутствии мицеллярной формы липоконъюгата DMPH-неларабина в смеси с тритоном X-100 через 9 ч количество жизнеспособных клеток составило 85,89 % от контроля. Обнаружено полное (как видно из рис. 3) отсутствие жизнеспособных клеток через 24 ч культивирования в присутствии мицеллярной формы липоконъюгата ДМФ-неларабина. При этом определение *in vitro* МИК ДМФ-неларабина в мицеллярной фазе показало, что полученные значения находятся в диапазоне 0,05–0,125 мкмоль/мл, сравнимой с МИК известного антибиотика флуконазола (0,0004–0,209 мкмоль/мл) [20]. МИК – минимальное количество антимикробного соединения в единице объема, полностью подавляющее рост данного микроорганизма.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что происходит локальный гидролиз соответствующего наноконтейнера, содержащего антимикробное соединение, в соответствии со схемой, предложенной на рис. 2, с постепенным, точечным высвобождением действующего вещества и подавлением роста тест-культуры микроорганизма.

*Определение фосфолипидной активности типа А культуральной жидкости Candida spp. и Staphylococcus aureus.* Для подтверждения механизма активации созданных препаративных

липоформ неларабина посредством реакций фосфолиполиза под действием микробной ФЛА, следующим этапом работы стало изучение липолитической активности культуральной жидкости *Candida* spp. и *Staphylococcus aureus* с использованием в качестве субстратов DMPH-неларабина, DMPH-бривудина и DMPH-холина (табл. 1, 2).

Т а б л и ц а 1. Гидролиз фосфолипидов (0,5 мкмоль/мл) в составе мицеллярной фазы под действием фосфолипазы типа А культуральной жидкости *Candida* spp.

T a b l e 1. Hydrolysis of phospholipids (0.5  $\mu\text{mol/ml}$ ) in the micellar phase under the action of phospholipase type A of the culture fluid of *Candida* spp.

Субстрат Substrate	Степень гидролиза, %* Degree of hydrolysis, %*	Скорость реакции, мкмоль·мин <sup>-1</sup> ·мг <sup>-1</sup> Reaction rate, $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$	Относительная скорость реакции, $V_{\text{опыта}} / V_{\text{контроля}}$ Relative reaction rate, $V_{\text{experiment}} / V_{\text{control}}$
DMPH-холин (контроль)	30,6 ± 0,8	0,0025 ± 0,0002	1
DMPH-неларабин	51,2 ± 0,9	0,00425 ± 0,0003	1,7

П р и м е ч а н и е. \* – время реакции 60 мин.

N o t e. \* – reaction time 60 min.

Т а б л и ц а 2. Гидролиз фосфолипидов (0,5 мкмоль/мл) в составе мицеллярной фазы под действием фосфолипазы типа А культуральной жидкости *Staphylococcus aureus*

T a b l e 2. Hydrolysis of phospholipids (0.5  $\mu\text{mol/ml}$ ) in the micellar phase under the action of phospholipase type A of the culture fluid of *Staphylococcus aureus*

Субстрат Substrate	Степень гидролиза, %* Degree of hydrolysis, %*	Скорость реакции, мкмоль·мин <sup>-1</sup> ·мг <sup>-1</sup> Reaction rate, $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$	Относительная скорость реакции, $V_{\text{опыта}} / V_{\text{контроля}}$ Relative reaction rate, $V_{\text{experiment}} / V_{\text{control}}$
DMPH-холин (контроль)	20,3 ± 0,5	0,00056 ± 0,0003	1
DMPH-бривудин	40,5 ± 0,8	0,001125 ± 0,0001	2

П р и м е ч а н и е. \* – время реакции 180 мин.

N o t e. \* – reaction time 180 min.

Из представленных в таблицах данных видно, что DMPH-холин гидролизуется под действием микробных фосфолипаз, выделяемых *Candida* spp. и *Staphylococcus aureus* в культуральную жидкость, менее эффективно, чем DMPH-неларабин и DMPH-бривудин. Однако конъюгат DMPH-бривудин наиболее подвержен гидролизу с участием панкреатической ФЛА<sub>2</sub>, в то время как DMPH-неларабин – наиболее стабильный конъюгат. Такие результаты могут быть объяснены тем, что объемные нуклеозидные составляющие липоконъюгатов создают определенные изменения на поверхности раздела «липид–вода». Такая модифицированная межфазная поверхность способствует усилению взаимодействия с липидным субстратом фосфатацилгидролаз, ферментов, имеющих в каталитическом центре специальный сайт, предусматривающий первоначальное связывание с организованной фосфолипидной поверхностью, рассматриваемой в качестве аллостерического эффектора [2].

**Заключение.** Исследование антимикробных эффектов нуклеозидов показало, что модификация галогеновыми заместителями при С5 пиримидинового кольца уридина приводит к проявлению антимикробной активности нуклеозидов в отношении грибов рода *Candida*, а 2-го положения пуринового кольца аденозина – тест-культур *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Chlorella* sp., *Candida utilis*, соответственно, спектр которой расширяется при увеличении размера введенного галогенового заместителя. Максимальный спектр биологической активности проявил бривудин (BVDU) в отношении тест-культур *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Candida sake*, *Candida utilis*, *Chlorella* sp. Последующая модификация липидным компонентом и изучение стабильности в составе желудочно-кишечного тракта показали снижение на всем временном промежутке фосфолиполиза в 1,5 и 5 раз степени гидролиза под действием панкреатической ФЛА<sub>2</sub> липоконъюгатов неларабина и бримурацила по сравнению с ФХ. Таким образом, эти соединения достаточно устойчивы к разрушению липолитическими ферментами и могут использоваться в качестве новых форм пролекарств. Липоконъюгат бривудина наиболее подвержен гидролизу, а липоконъюгат на основе неларабина отличается самой высокой стабильностью к фосфолиполизу.

Из полученных результатов исследования антимикробной активности конъюгированных соединений следует, что бактерицидное действие фосфатидильных производных неларабина

и бривудина зависит не только от типа конъюгированного нуклеозида, но и от структуры межфазной поверхности наноконтейнеров, предложенных в качестве пролекарств. В случае липоконъюгатов бривудина наибольшим биоцидным действием, вдвое подавляющим скорость роста *Staphylococcus aureus*, обладают бисубстратные липосомы из эквимольной смеси DMPH и DMPH-бривудин. Препараты на основе липоконъюгатов неларабина начинают блокировку скорости роста *Candida* spp. только через 9 ч от начала культивирования и их эффективность выше, чем у липосом с неконъюгированным неларабином. Лаг-период, наблюдаемый при проявлении антимикробного эффекта в отношении *Candida* spp., вероятнее всего, связан с необходимостью наработки фосфолипазы микроорганизмом для последующей активации препаративной формы в ходе фосфолиполиза. На это указывает тот факт, что гидролиз липоконъюгатов протекает в 1,7 раза эффективнее, чем гидролиз фосфатидилхолина.

Для липоконъюгатов неларабина лучшей лекарственной формой являются смешанные мицеллы с детергентом. Данное пролекарство с учетом диапазона установленной МИК (0,05–0,125 мкмоль/мл) не уступает по эффективности другим антимикробным препаратам, например, таким как флуконазол, у которого МИК колеблется от 0,0004 до 0,209 мкмоль/мл.

Замедление на треть роста бактерий *Staphylococcus aureus* и значительное (до 90 % от контроля) уменьшение числа колониеобразующих единиц *Candida* spp. в присутствии биоцидных липоконъюгатов бривудина и неларабина показывает правомочность предложенной новой стратегии использования микробных фосфолипаз типа А как факторов вирулентности бактерий, для разрушения наноконтейнеров на основе фосфолипидов различной формы организации (мицеллы, моно- и бисубстратные липосомы, формируемые на основе фосфолипидов, к которым специфична микробная ФЛА). Такой инновационный подход может стать основой для разработки «умной» технологии создания фосфолипидных наноконтейнеров, предусматривающей использование свойств самих микробных клеток с целью освобождения антибиотика из предложенной лекарственной формы и, таким образом, самоуничтожения клетки патогена.

### Список использованных источников

1. Pakbin, B. Virulence factors of enteric pathogenic *Escherichia coli*: a review / B. Pakbin, W. M. Brück, J. W. A. Rossen // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22, N 18. – Art. 9922. <https://doi.org/10.3390/ijms22189922>
2. Dennis, E. A. Allosteric regulation by membranes and hydrophobic subsites in phospholipase A<sub>2</sub> enzymes determine their substrate specificity / E. A. Dennis // Journal of Biological Chemistry. – 2022. – Vol. 28, N 5. – Art. 101873. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101873>
3. Bacterial sphingomyelinases and phospholipases as virulence factors / M. Flores-Díaz, L. Monturiol-Gross, C. Naylor [et al.] // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2016. – Vol. 80, N 3. – P. 597–628. <https://doi.org/10.1128/mmr.00082-15>
4. Thomson, J. M. Nucleoside analogues as antibacterial agents / J. M. Thomson, I. L. Lamont // Frontiers in Microbiology. – 2019. – Vol. 10. – Art. 952. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00952>
5. Zhuang, J. Recent development of pyrimidine-containing antimicrobial agents / J. Zhuang, S. Ma // ChemMedChem. – 2020. – Vol. 15, N 20. – P. 1875–1886. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202000378>
6. Antibiotic resistance and nanotechnology: A narrative review / X. Zhu, Q. Tang, X. Zhou, M. R. Momeni // Microbial Pathogenesis. – 2024. – Vol. 193. – Art. 106741. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2024.106741>
7. Anion exchange resins in phosphate form as versatile carriers for the reactions catalyzed by nucleoside phosphorylases / J. N. Artsemyeva, E. A. Remeeva, T. N. Buravskaya [et al.] // Beilstein Journal of Organic Chemistry. – 2020. – Vol. 16. – P. 2607–2622. <https://doi.org/10.3762/bjoc.16.212>
8. Therapeutic effect of bromvinyldeoxyuridine and several nucleotides during experimental herpetic infection / S. S. Marennikova, G. R. Matsevich, E. V. Chekunova [et al.] // Acta Virologica. – 1984. – Vol. 28, N 6. – Art. 522. PMID: 6152132.
9. Бергельсон, Л. Д. Препаративная биохимия липидов / Л. Д. Бергельсон, Э. В. Дятловицкая, Ю. Г. Молотковский. – М., 1981.
10. Vaskovsky, V. E. A universal reagent for phospholipid analysis / V. E. Vaskovsky, E. Y. Kostetsky, J. M. Vasendin // Journal of Chromatography. – 1975. – Vol. 114, N 1. – P. 129–141. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(00\)85249-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(00)85249-8)
11. Сизенцов, А. Н. Методы определения антибиотикопродуктивности и антибиотикорезистентности / А. Н. Сизенцов. – Оренбург, 2009. – 107 с.
12. Mikhailopulo, I. A. New trends in nucleoside biotechnology / I. A. Mikhailopulo, A. I. Miroshnikov // Acta Naturae. – 2010. – Vol. 52, N 2. – P. 36–58. <https://doi.org/10.32607/20758251-2010-2-2-36-58>
13. Yates, M. K. The evolution of antiviral nucleoside analogues: A review for chemists and non-chemists. Part II: Complex modifications to the nucleoside scaffold / M. K. Yates, K. L. Seley-Radtke // Antiviral Research. – 2019. – Vol. 162. – P. 5–21. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.11.016>
14. Feng, J. Y. Addressing the selectivity and toxicity of antiviral nucleosides / J. Y. Feng // Antiviral Chemistry and Chemotherapy. – 2018. – Vol. 26. – Art. 2040206618758524. <https://doi.org/10.1177/2040206618758524>
15. Литвинко, Н. М. Ингибирование фосфолипазы А<sub>2</sub> производными виразола / Н. М. Литвинко // Доклады Национальной академии наук Беларуси. – 2021. – Т. 65, № 3. – С. 309–319. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-3-309-319>

16. Sofosbuvir-based treatment for HCV: a safe option in patients undergoing hemodialysis / A. Salim, M. O. Farooq, F. U. A. Mengal, K. Malik // *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*. – 2020. – Vol. 30, N 11. – P. 1230–1231. <https://doi.org/10.29271/jcpsp.2020.11.1230>
17. Shimony, Sh. Nelarabine: when and how to use in the treatment of T-cell acute lymphoblastic leukemia / Sh. Shimony, D. J. DeAngelo, M. R. Luskin // *Blood Advances*. – 2024. – Vol. 8, N 1. – P. 23–36. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2023010303>
18. Литвинко, Н. М. Роль пуриновых и пиримидиновых нуклеозидов и их производных в реакциях, катализируемых панкреатической фосфолипазой  $A_2$  / Н. М. Литвинко // *Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Сeryя хімічных навук*. – 2021. – Т. 58, № 1. – С. 105–128. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2022-58-1-105-128>
19. Герловский, Д. О. Активация пролекарств, сконструированных на основе фосфолипидов, в составе различных наночастиц / Д. О. Герловский, В. А. Расич, Н. М. Литвинко // *Новости медико-биологических наук*. – 2023. – № 3. – С. 25–26.
20. Minimum inhibitory concentrations of amphotericin B, azoles and caspofungin against *Candida* species are reduced by farnesol / R. A. Cordeiro, C. E. C. Teixeira, R. S. N. Brihante [et al.] // *Medical Mycology*. – 2013. – Vol. 51, N 1. – P. 53–59. <https://doi.org/10.3109/13693786.2012.692489>

## References

1. Pakbin B., Brück W. M., Rossen J. W. A. Virulence factors of enteric pathogenic *Escherichia coli*: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, vol. 22, no. 18, art. 9922. <https://doi.org/10.3390/ijms22189922>
2. Dennis E. A. Allosteric regulation by membranes and hydrophobic subsites in phospholipase  $A_2$  enzymes determine their substrate specificity. *Journal of Biological Chemistry*, 2022, vol. 28, no. 5, art. 101873. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101873>
3. Flores-Díaz M., Monturiol-Gross L., Naylor C., Alape-Girón A., Flieger A. Bacterial sphingomyelinases and phospholipases as virulence factors. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2016, vol. 80, no. 3, pp. 597–628. <https://doi.org/10.1128/mmb.00082-15>
4. Thomson J. M., Lamont I. L. Nucleoside analogues as antibacterial agents. *Frontiers in Microbiology*, 2019, vol. 10, art. 952. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00952>
5. Zhuang J., Ma S. Recent development of pyrimidine-containing antimicrobial agents. *ChemMedChem*, 2020, vol. 15, no. 20, pp. 1875–1886. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202000378>
6. Zhu X., Tang Q., Zhou X., Momeni M. R. Antibiotic resistance and nanotechnology: A narrative review. *Microbial Pathogenesis*, 2024, vol. 193, art. 106741. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2024.106741>
7. Artsemyeva J. N., Remeeva E. A., Buravskaya T. N., Konstantinova I. D., Esipov R. S., Miroshnikov A. I., Litvinko N. M., Mikhailopulo I. A. Anion exchange resins in phosphate form as versatile carriers for the reactions catalyzed by nucleoside phosphorylases. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 2020, vol. 16, pp. 2607–2622. <https://doi.org/10.3762/bjoc.16.212>
8. Marennikova S. S., Matsevich G. R., Chekunova E. V., Nikulina V. G., Mikhailopulo I. A., Gorbovitskaya G. E., Kulak T. I. Therapeutic effect of bromovinyldeoxyuridine and several nucleotides during experimental herpetic infection. *Acta Virologica*, 1984, vol. 28, no. 6, art. 522. PMID: 6152132
9. Bergelson L. D., Dyatlovitskaya E. V., Molotkovsky Yu. G. *Preparative Biochemistry of Lipids*. Moscow, 1981 (in Russian).
10. Vaskovsky V. E., Kostetsky E. Y., Vasendin J. M. A universal reagent for phospholipid analysis. *Journal of Chromatography*, 1975, vol. 114, no. 1, pp. 129–141. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(00\)85249-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(00)85249-8)
11. Sizensov A. N. *Methods for Determining Antibiotic Productivity and Antibiotic Resistance*. Orenburg, 2009. 107 p. (in Russian).
12. Mikhailopulo I. A., Miroshnikov A. I. New trends in nucleoside biotechnology. *Acta Naturae*, 2010, vol. 2, no. 2, pp. 36–58. <https://doi.org/10.32607/20758251-2010-2-2-36-58>
13. Yates M. K., Seley-Radtke K. L. The evolution of antiviral nucleoside analogues: A review for chemists and non-chemists. Part II: Complex modifications to the nucleoside scaffold. *Antiviral Research*, 2019, vol. 162, pp. 5–21. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.11.016>
14. Feng J. Y. Addressing the selectivity and toxicity of antiviral nucleosides. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 2018, vol. 26, art. 2040206618758524. <https://doi.org/10.1177/2040206618758524>
15. Litvinko N. M. Inhibition of phospholipase  $A_2$  by Virasole derivation. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2021, vol. 65, no. 3, pp. 309–319 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-3-309-319>
16. Salim A., Farooq M. O., Mengal F. U. A., Malik K. Sofosbuvir-based treatment for HCV: a safe option in patients undergoing hemodialysis. *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*, 2020, vol. 30, no. 11, pp. 1230–1231. <https://doi.org/10.29271/jcpsp.2020.11.1230>
17. Shimony Sh., DeAngelo D. J., Luskin M. R. Nelarabine: when and how to use in the treatment of T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood Advances*, 2024, vol. 8, no. 1, pp. 23–36. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2023010303>
18. Litvinko N. M. Role of purine and pyrimidine nucleosides and their derivatives in reactions catalyzed by pancreatic phospholipase  $A_2$ . *Vesti Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2022, vol. 58, no. 1, pp. 105–128 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2022-58-1-105-128>
19. Gerlovsky D. O., Rasich V. A., Litvinko N. M. Activation of prodrugs constructed on the basis of phospholipids in the composition of various nanoparticles. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk = News of Medical and Biological Sciences*, 2023, no. 3, pp. 25–26 (in Russian).
20. Cordeiro R. A., Teixeira C. E. C., Brilhante R. S. N., Castelo-Branco D. S. C. M., Paiva M. A. N., Giffoni Leite J. J., Lima D. T., Monteiro A. J., Sidrim J. J. C., Rocha M. F. G. Minimum inhibitory concentrations of amphotericin B, azoles and caspofungin against *Candida* species are reduced by farnesol. *Medical Mycology*, 2013, vol. 51, no. 1, pp. 53–59. <https://doi.org/10.3109/13693786.2012.692489>

## Информация об авторах

Литвинко Наталья Михайловна – д-р хим. наук, профессор, заведующий лабораторией. E-mail: al\_h@mail.ru.  
 Герловский Денис Олегович – канд. хим. наук, доцент, научный сотрудник. E-mail: denis2904-83@mail.ru.  
 Михайлопуло Игорь Александрович – член-корреспондент, д-р хим. наук, гл. науч. сотрудник. E-mail: imikhailopulo@gmail.com.

## Information about the authors

Litvinko Natalia M. – D. Sc. (Chemistry), Professor, Head of the Laboratory. E-mail: al\_h@mail.ru.  
 Gerlovsky Denis O. – Ph. D. (Chemistry), Assistant Professor, Researcher. E-mail: denis2904-83@mail.ru.  
 Mikhailopulo Igor A. – Corresponding Member, D. Sc. (Chemistry), Chief Researcher. E-mail: imikhailopulo@gmail.com.