

**Чубатова Ольга Игоревна**

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ  
ЛИПОСОМИРОВАННЫХ ФИТОЭКСТРАКТОВ  
ПРОТИВ ТУБЕРКУЛЁЗНОЙ ИНФЕКЦИИ  
ПОСРЕДСТВОМ АЭРОЗОЛЬНОЙ ОБРАБОТКИ ВОЗДУХА**

03.02.03 – микробиология

03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

**Автореферат**

диссертации на соискание учёной степени  
кандидата биологических наук

Оболенск – 2013

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека РФ

**Научные руководители:**

член-корреспондент РАН,  
доктор медицинских наук, профессор

**Дятлов Иван Алексеевич**

кандидат биологических наук

**Потапов Василий Дмитриевич**

**Официальные оппоненты:**

**Черноусова Лариса Николаевна** – доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза» Российской академии медицинских наук, заведующая отделом микробиологии

**Игнатов Сергей Георгиевич** - доктор биологических наук, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека РФ, заведующий лаборатории бионанотехнологии отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов

**Ведущая организация:**

Московское бюджетное учреждение здравоохранения «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом»

Защита диссертации состоится «06» декабря 2013 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 350.002.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации по адресу: 142279, Московская область, Серпуховской район, п. Оболенск.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» (ФБУН ГНЦ ПМБ) Роспотребнадзора

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2013 г.

Учёный секретарь  
диссертационного совета

**Фурсова Надежда Константиновна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность исследования

Борьба с респираторными инфекционными заболеваниями, в том числе с туберкулёзом (ТБ), является одним из важнейших направлений здравоохранения. Туберкулез вносит большой вклад в показатель смертности от инфекционных заболеваний: ежегодно в мире 3-5 млн. чел. заболевают туберкулёзом и 2,5-3 млн. чел. умирают (Пунга, 2012; Шилова, 2011; Якубовяк, 2010). Антибактериальная терапия туберкулеза в значительной степени осложняется появлением множественно лекарственно-устойчивых штаммов возбудителя туберкулёза *Mycobacterium tuberculosis* (Корнилова, 2012). В связи с тем, что воздушно-капельный путь распространения ТБ-инфекции является преимущественным, большое значение приобретает обеспечение микробиологической чистоты воздуха в помещениях совместного пребывания здоровых людей и инфицированных туберкулёзом. Применение современных средств коллективной защиты (обработка воздуха ультрафиолетом и обработка поверхностей дезинфицирующими препаратами) в значительной степени снижает риск заражения туберкулёзом. Однако перечисленные средства дезинфекции помещений зачастую вызывают раздражение слизистых оболочек дыхательных органов человека и небезопасны с точки зрения экологической чистоты (Пирузян и др., 1974, Соколова 1999, Ступин, 2011). Кроме того, многие специалисты отмечают возможность появления форм возбудителя туберкулёза, устойчивых к антисептикам и дезинфектантам, что значительно снижает эффективность применяемых средств (Ловачева и др., 2006).

Поэтому в научной литературе в последние годы появилось много сообщений об исследованиях, направленных на поиск новых дезинфектантов и антисептиков природного происхождения, лишенных указанных отрицательных свойств, например, выделенных из водорослей (Liguori et al., 2009) и высших растений (Gull et al., 2012; Freitas et al., 2013). Кроме того известно, что эфирные масла растений с успехом используются для профилактики и лечения многих инфекционных заболеваний (Барнаулов, 2008). Они оказывают мягкое иммуномодулирующее действие, имеют низкую токсичность, вызывают активацию нервной и эндокринной систем, а также оказывают позитивное воздействие на весь организм человека (Wagner, 1999). Например, описаны уникальные бактерицидные свойства смолы сосны *Pinus silvestris*, используемые при лечении инфекционных заболеваний органов дыхания и кожи (Schib, 1958); антимикробная активность эфирного масла монарды дудчатой *Monarda fistulosa*, широко применяемого в медицине, косметике, пищевой промышленности и сельском хозяйстве (Zhilyakova, 2009);

выраженное бактерицидное и консервирующее действие эфирного масла бархатцев мелкоцветковых *Tagetes patula* (Romagnoli, 2005). Важно, что даже при длительном контакте с компонентами фитоэкстрактов микроорганизмы не вырабатывают к ним резистентности, а действие на них классических антибиотиков при этом потенцируется (Виноградова, 2001). Широко применяются в медицинской практике фитоэкстракты таких растений как аир, алоэ древовидное, анис, крапива, календула, зверобой, тысячелистник и многие другие. Полезные свойства этих растений объясняются наличием у них фитонцидов, витаминов, микроэлементов, дубильных веществ, гликозидов и других биологически активных веществ. Показано, что некоторые фитоэкстракты обладают синергидным действием при совместном использовании, поэтому разработка их наиболее эффективных композиций и дозировок представляет несомненный практический интерес (Корсун, 1995; Машковский, 1998; Казначеева, 1999; Соколова, 1999; Горбунова, 2010).

При создании препаратов фитонцидов, пригодных для обработки воздуха помещений, необходимо решить задачу пролонгирования действия активных субстанций при аэрозольной обработке, выбора адекватной системы «доставки» этих веществ к мишеням. В последние десятилетия для решения подобных задач успешно применяются липосомные технологии, которые занимают приоритетное место при создании многих фармакологических препаратов (Осто, 2008). Липосомы обеспечивают стабильность заключенным в них компонентам и устойчивость к воздействию окружающей среды, а также эффективность «доставки» в органы и ткани организма человека (Чубатова, 2010). Одним из ценных свойств липосом является их способность обеспечивать ускорение регенерации некоторых тканей – например, легких при туберкулезных поражениях, что описано при аэрогенном введении данных препаратов (Перельман, 2001). Кроме того, использование липосом позволяет варьировать состав и концентрацию используемых эфирных масел в зависимости от поставленных задач.

На основании вышесказанного задача данного исследования - разработка экологически безопасных препаратов на основе композиций природных фитоэкстрактов в липосомированной форме и их применение для обработки воздуха помещений - является актуальной для практического здравоохранения.

**Цель исследования.** Разработка и изучение эффективности применения липосомированных фитоэкстрактов против туберкулёзной инфекции посредством аэрозольной обработки воздуха помещений.

**Задачи исследования:**

1. Изучить чувствительность штаммов *Mycobacterium tuberculosis* и других условно-патогенных микроорганизмов к бактерицидному воздействию

фитонцидов сосны обыкновенной *Pinus silvestris*, монарды дудчатой *Monarda fistulosa* и бархатцев мелкоцветковых *Tagetes patula* и их композиций; выбрать композицию, обладающую максимальной бактерицидной активностью.

2. Стабилизировать рецептурные композиции фитоэкстрактов для аэрозольного применения путём их включения в липосомы и изучить бактерицидные свойства полученных препаратов *in vitro* по отношению к штаммам *Mycobacterium tuberculosis* (в том числе к множественно лекарственно-устойчивым) и к другим условно-патогенным микроорганизмам.

3. Изучить токсичность и иммунобиологическую активность липосомированных фитоэкстрактов на моделях туберкулезной инфекции *in vitro* (культура клеток) и *in vivo* (организм экспериментального животного).

4. Изучить эффективность аэрозольного применения комплексных препаратов фитонцидов для лечения и профилактики туберкулезной инфекции на моделях хронического туберкулёза у мышей линии С57В1 и острой туберкулезной инфекции у морских свинок.

5. Изучить эффективность аэрозольного применения липосомированных препаратов фитонцидов для улучшения показателей микробиологической чистоты воздуха в лечебно-профилактических учреждениях; оценить возможность использования данного метода в комплексном лечении больных туберкулезом.

### **Научная новизна**

Впервые показан синергидный антимикробный эффект фитонцидов, выделенных из древесины сосны *Pinus silvestris*, в сочетании с эфирными маслами бархатцев мелкоцветковых *Tagetes patula* и монарды дудчатой *Monarda fistulosa* в отношении вирулентного штамма *M. tuberculosis* H37Rv, множественно-резистентных штаммов *M. tuberculosis* PS-09 и *M. tuberculosis* mR-01 и широкого круга условно-патогенных микроорганизмов.

Впервые осуществлена стабилизация композиции фитоэкстрактов для аэрозольного применения путём их включения в липосомы, продемонстрирована бактерицидная активность разработанного препарата в отношении возбудителя туберкулеза и условно-патогенных микроорганизмов.

Впервые продемонстрировано увеличение бактерицидной активности клеток макрофагоподобной линии J774 под воздействием комплексного липосомированного препарата фитоэкстрактов.

Впервые показана возможность аэрозольного использования липосомированного комплексного препарата фитонцидов для лечения хронического туберкулеза на модели мышей линии С57В1 и для профилактики заражения туберкулезом на модели морских свинок.

Впервые установлено снижение уровня микробной контаминации воздушного пространства лечебно-профилактических учреждений общего и противотуберкулезного профиля в результате регулярной аэрозольной обработки липосомированным комплексным препаратом фитонцидов; изучена возможность применения разработанного препарата в комплексном лечении больных туберкулезом.

Научная новизна работы подтверждается патентами: способ получения липосомальной композиции (Пат. RU 2311449, 2007), выделение поверхностно-активной компоненты из жидкой гетерогенной среды (Пат. RU 2393903, 2010), кондиционирование растительного сырья (Пат. RU 2394416, 2010), экстрагирование (Пат. RU 2393905, 2010); композицию взвеси липосом для профилактики и лечения воздушно-капельных инфекций, в частности туберкулёза, и способ её аэрогенной доставки (Пат. RU 2452470, 2012).

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Практическая значимость работы заключается в разработке рецептур и техно-логии производства липосомальных комплексных препаратов фитоэкстрактов (пять наименований), завершившихся промышленным выпуском серии средств «Биологическое очищение воздуха» - федеральный уровень внедрения; разработке методических рекомендаций «Порядок работы с аэрозолями наночастиц и микроорганизмов», Оболенск, 2010 г. - учрежденческий уровень внедрения. Утверждена нормативно-техническая документация и методы контроля качества готовой продукции - федеральный уровень внедрения; получено экспертное заключение №342-256И от 26.04.2011 г. о безопасности применения средств в присутствии человека, выданное ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в г. Москве» на основании Протоколов №990, 992-996 от 25.02.2011; получены сертификаты и паспорта качества на серию профилактических средств для аэрозольного применения (Сертификат соответствия № РОСС RU.АГ75.Н00032 от 15.05.2012) - федеральный уровень внедрения.

### **Методология и методы исследования**

В работе использованы экспериментальные методы исследования: биотехнологические (получение липосом, изучение свойств рецептурных форм, определение методов контроля качества ингредиентов и готовых рецептур), микробиологические (культивирование микроорганизмов на жидких и плотных питательных средах, определение бактерицидного и бактериостатического действия, определение числа колониеобразующих единиц в воздушном пространстве помещений), биохимические (экстрагирование биологически активных веществ, формирование смесей для липосом, построение

рецептурных формул), культуральные (применение клеточных линий), биологические (исследования на животных).

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Экстракт из древесины сосны *Pinus silvestris*, в сочетании с эфирными маслами бархатцев мелкоцветковых *Tagetes patula* и монарды дудчатой *Monarda fistulosa*, а также липосомированный комплексный препарат фитоэкстрактов обладают синергидной антимикробной активностью в отношении вирулентного штамма *M. tuberculosis* H37Rv, множественно-резистентных штаммов *M. tuberculosis* PS-09 и *M. tuberculosis* mR-01 и широкого круга условно-патогенных микроорганизмов.

2. Комплексный липосомированный препарат фитоэкстрактов стимулирует увеличение бактерицидной активности клеток макрофагоподобной линии J774 при отсутствии цитотоксического действия.

3. Аэрозольное применение липосомированного комплексного препарата фитонцидов эффективно для лечения хронического туберкулеза на модели мышей линии C57Bl и для профилактики заражения туберкулезом на модели морских свинок.

4. Аэрозольная обработка воздуха помещений лечебно-профилактических учреждений общего и противотуберкулезного профиля обеспечивает снижение уровня микробной контаминации воздушного пространства; данный прием обладает положительным эффектом в комплексном лечении больных туберкулезом.

### **Апробация результатов**

Результаты диссертационной работы представлены и доложены на: V Московском международном конгрессе «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 16-20 марта 2009 г.); на выставке «РУСНАНОЭКСПО» (Москва, декабрь 2009 г.); 51-ой Междисциплинарной конференции по антимикробным препаратам и химиотерапии (Чикаго, 17-20 сентября 2011 г.) (51th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (Chicago, IL, USA.- September 17-20, 2011)); XII международном форуме и выставке «Высокие технологии XXI века» (Москва, 18-21 апреля 2011 г.); 2-м Всемирном форуме «Евразийские высокие технологии — развитие активного долголетия» (Москва, 7-9 ноября 2012 г.).

План и аннотация диссертации обсуждены и одобрены на заседании Учёного совета ФБУН ГНЦ ПМБ 15 октября 2013 г. (протокол № 36).

### **Публикации**

Результаты работы опубликованы в 19 научных публикациях, в том числе в 6 статьях в рецензируемых журналах, 5 патентах, 3 статьях в других изданиях и 6 тезисах научных конференций.

## Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 173 страницах машинописного текста и включает следующие разделы: Введение, Основная часть (Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты и обсуждение), Заключение, Выводы, Список сокращений и условных обозначений, Список литературы (185 наименований, в т.ч. 98 российских), Приложения. Работа иллюстрирована 20 рисунками и 20 таблицами.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы

**Микроорганизмы:** штаммы *Mycobacterium tuberculosis*: *M. tuberculosis* H37Rv получен из ГИСК им. Л.А. Тарасевича, множественно лекарственно устойчивые *M. tuberculosis* PS-09Rif<sup>R</sup> Izo<sup>R</sup> Eta<sup>R</sup> и *M. tuberculosis* mR-01 Rif<sup>R</sup> Izo<sup>R</sup> Eta<sup>R</sup> Str<sup>R</sup> Kan<sup>R</sup> Ami<sup>R</sup> Cap<sup>R</sup>, получены из Супранациональной лаборатории ВОЗ (Швеция). Штаммы *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia* и грибов *Aspergillus niger*, *Candida albicans* выделены из клинических материалов на базе ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии №164 ФМБА России», п. Оболенск.

**Методы культивирования *M. tuberculosis*:** Микобактерии культивировали на жидкой питательной среде 7H9 (HiMedia, Индия) и среде Middelbrook 7H11 AgarBase (HiMedia, Индия).

**Эфирные масла растений** монарды дудчатой *Monarda fistulosa*, иссопа лекарственного *Hyssopus officinalis* (ООО НПФ «Сайбервижн-Био», Россия) и бархатцев мелкоцветковых *Tagetes patula* (ООО «Производственно-торговая компания Туше-Флора», Россия).

**Пропилен-гликолиевые экстракты растений** шалфея лекарственного *Salvia officinalis*, календулы лекарственной *Calendula officinalis*, василька синего *Centaurea cyanus*, корня одуванчика *Taraxacum officinale*, сосны обыкновенной *Pinus silvestris*, донника лекарственного *Melilotus officinalis* (ООО «Камелия НПП», Россия).

**Фосфолипиды:** липофолк (общая фракция фосфолипидов из желтка яиц (Lecithin, Ovum oil (INCI), (Биотех; Россия ТУ 10.5850616.005.91).

**Метод получения липосомной композиции:** скоростное диспергирование двухфазной системы (вода/нерастворимые частицы). Способ включает этапы формирования смеси липидов с липофильными активными веществами (АВ); введение гидрофильных компонентов и мелкодисперсного порошка; диспергирование и полимеризацию гелеобразователя.



**Определение бактерицидных свойств** фитоэкстрактов и липосомированных препаратов проводили методом прямого нанесения на газон микроорганизмов с целью определения полного подавления роста бактерий. Для оценки фунгицидных свойств использовали метод агаровых блоков.

**Лабораторные животные:** линейные мыши C57Bl и BalbC (вес 20-22 г, возраст 7-8 недель); предоставлены питомником ФБУН ГНЦ ПМБ. Эксперименты проводили в соответствии со стандартными требованиями (Лившиц, 1978); морские свинки. Заражение мышей *M. tuberculosis H37Rv* производили внутривенно, внутрибрюшинно и аэрозольно, морских свинок - аэрозольно.

**Культуры клеток.** Линии эпителиальных клеток матки человека HeLaS3 и макрофагоподобных клеток мыши J774 предоставлена из Российской Коллекции Клеточных культур (РККК) Института цитологии РАН (г. Санкт-Петербург). Мышинные перитонеальные макрофаги и нейтрофилы, а также нейтрофилы периферической крови человека выделяли *in situ* в ходе выполнения данной работы.

**Выделение клеток иммунной системы от животных.** Получали суспензию перитонеальных макрофагов мыши в полной среде DMEM и вносили в 96-луночный планшет по 100 мкл в лунку. Для опытов *in vitro* к клеткам, полученным от интактных мышей, добавляли исследуемые эфирные масла и липосомированные фитоэкстракты в концентрациях 2, 10 и 20 мг/л и инкубировали 24 ч при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. Время контакта веществ с макрофагами в опыте *in vitro* составляло 24 часа.

**Оценка функциональной активности фагоцитарных клеток.** Выделение радикальных форм кислорода фагоцитами определяли методом хемилюминесценции (ХЛ) в 96-луночных планшетах для сцинтилляционного счета, в которые вносили суспензию фагоцитов так, чтобы конечная концентрация составляла  $0,5 \times 10^6$  кл/мл., затем добавляли суспензию зимозана в концентрации 2 мг/мл по 0,02 мл в лунку и  $5,6 \times 10^{-4}$  М раствор люминола по 0,02 мл в лунку. Детекцию хемилюминесценции проводили на приборе Victor X3 2030 (PerkinElmer, Сингапур) при температуре 37 °С с интервалами 10 с, как сумму импульсов за 120 мин.

**Методика обработки воздушного пространства помещений.** Согласно инструкции по применению и выбранной схеме обработки ее проводили один раз в сутки с помощью распыления механическим дозатором, направляя струю вверх под углом в 50-60 ° от горизонтальной поверхности. При одном нажатии на курок дозатора расход средства составлял ~ 0,9 мл. Расход препарата на комнату площадью 20–30 м<sup>2</sup> составлял 9-10 мл. Определение ОМЧ, патогенной






и условно патогенной флоры в воздухе проводили согласно МУК 4.2.2942-11.4.2

**Методы статистической обработки.** Количественные показатели экспериментов подвергали статистической обработке с помощью критерия Стьюдента и непараметрического рангового критерия Мана-Уитни. Различие между опытной и контрольной группами признавали достоверным при  $P < 0,05$ . Расчеты проводили с помощью пакета программ Windows Excell.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Изучение бактерицидных свойств фитоэкстрактов (ФЭ) и их композиций

Изучена чувствительность штаммов туберкулезного микроба, а также условно-патогенных микроорганизмов, которые часто осложняют течение основного заболевания, к фитоэкстрактам (ФЭ) сосны, бархатцев, монарды и шалфея, характеризующимся высоким содержанием фенольных соединений и смол. Показано, что препараты ФЭ обладают подавляющей активностью по отношению к бактериям видов *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis* и *S. pyogenes*, а также к грибам видов *Aspergillus niger* и *Candida albicans*. Кроме того было установлено, что инактивирующее действие препаратов, содержащих эфирное масло бархатцев, более выражено в отношении бактерий *E. coli*, *K. pneumoniae* и *M. tuberculosis*, а также грибов *A. niger* и *C. albicans*. Степень подавления тест-культур микроорганизмов также была разной: диаметр зоны подавления экстрактом сосны составлял 2-3 мм, эфирным маслом бархатцев – 1-2 мм, а эфирным маслом монарды – 1,5-5,5 мм. Результаты некоторых экспериментов представлены на рис. 1.

| <i>Klebsiella pneumoniae</i>   | <i>Staphylococcus aureus</i>  | <i>Escherichia coli</i>   | <i>Proteus vulgaris</i>  | <i>Candida albicans</i>   |
|--|---|---|--|---|
|   |  |  |  |  |
| 1- экстракт древесины сосны (ЭДС) 1%; 2- эфирное масло иссопа (ЭМИ) 1%;<br>3- эфирное масло бархатцев (ЭМБ) 1%; 4-эфирное масло монарды (ЭММ) 1% ;5- экстракт шалфея (ЭШ)1%. |   |   |  |   |

**Рисунок 1-** Подавляющая активность фитоэкстрактов в отношении микроорганизмов

## Создание рецептурных композиций липосомированных фитоэкстрактов (ЛФЭ) с бактерицидным действием

Наличие смолистых соединений в ФЭ и низкая растворимость эфирных масел, которые существенно мешают увеличению их концентраций в жидкой среде, вызвало необходимость перевода ФЭ в водорастворимую гелевую форму. Для увеличения локальных концентраций ФЭ, имеющих более пролонгированное действие, была использована разработанная нами методика заключения этих соединений в липосомы. При формировании липосом (ЛП) для аэрозольного применения был адаптирован метод скоростного диспергирования (Патент РФ №2311449, 2005), который обеспечивает конструирование мелких однослойных ЛП, с высоким уровнем пенетрации в ткани и включения АВ. В качестве мелкодисперсного порошка использовали гелеобразователь карбомер (Карбопол ультрез 21, Carbopol ultrez 21, Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer (INCI) «Noveon Inc.», США); в качестве источника фосфолипидов для ЛП использовали общую фракцию липидов яичного желтка (Ovum oil (INCI), 8001-17-0 (CAS), (Липофолк, ООО «Биотех»; РФ)); в качестве стабилизатора геля - глицерин (Glycerol, Glicerin (INCI) 56-81-5 (CAS), ГОСТ 6824-96); в качестве антиоксиданта - эпофен ((2,4-гидроксифенилен)-1-окси, 4-гидроксифенилен) (ООО НПК «Иглессия»); в качестве сорбента – бланозу - натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы (Blanose (INCI), 9004-32-4 (CAS), «Hercules International GmbHAqualon Division», Швейцария); в качестве АВ применяли целевые фитоэкстракты. При скоростном диспергировании липидной, водорастворимой и твердой фаз на границе раздела формируются ЛП. Под воздействием раствора NaOH при pH 7.0, порошок карбомер преобразуется в гель и стабилизирует ЛП, существенно снижая энергозатраты при получении готовых препаратов. Контроль качества ЛП осуществляли с помощью электронной микроскопии: размер ЛП составляет от 80 до 150 нм.

Стабильность готовых липосомных препаратов изучали, определяя их термостабильность согласно ГОСТ 29188.3-91 и бактерицидную активность (БА) в течение 2-х лет. Результаты исследования показали, что физические свойства и БА препаратов стабильны в течение 24-х месяцев и при 4-х кратном замораживании/оттаивании в диапазоне температуры хранения от 0°C до + 25°C.

Результаты сравнения бактерицидной активности монопрепаратов и липосомных форм фитоэкстрактов выявили чувствительность микроорганизмов в отношении ЛФЭ и подтвердили избирательность их действия. Применение липосом обеспечило эффект синергии фитоэкстрактов и

снижение рабочей дозы ЭММ в 3 раза, ЭМБ – в 2 раза, ЭДС – в 1,5 раза (табл. 1).

Бактерицидный эффект комплексного препарата ЛФЭ в отношении лабораторного штамма *M. tuberculosis* выявил синергизм антибактериального действия составляющих данный препарат веществ, что выразилось в снижении эффективной концентрации этих веществ (табл. 2, 3).

**Таблица 1** - Изучение бактерицидных свойств гелей с фитоэкстрактами и липосомных средств на их основе

| Тест-штамм                        | Гель с экстрактом сосны |     |     |   | Гель с эфирным маслом бархатцев |          |     |     | Гель с эфирным маслом монарды |     |     |   |
|-----------------------------------|-------------------------|-----|-----|---|---------------------------------|----------|-----|-----|-------------------------------|-----|-----|---|
|                                   | 3 %                     |     | 1 % |   | 3 %                             |          | 1 % |     | 3 %                           |     | 1 % |   |
|                                   | 1*                      | 2** | 1   | 2 | 1                               | 2        | 1   | 2   | 1                             | 2   | 1   | 2 |
| <i>Escherichia coli</i>           | +                       | 2   | ±   | - | +                               | 2        | +   | 1,5 | +                             | 3,5 | +   | 2 |
| <i>Staphylococcus aureus</i>      | +                       | 2   | ±   | - | -                               | -        | -   | -   | +                             | 3,5 | +   | - |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>     | +                       | 3   | -   | - | -                               | -        | -   | -   | +                             | -   | -   | - |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | ±                       | 2,5 | ±   | - | -                               | -        | -   | -   | +                             | 4   | +   | - |
| <i>Micrococcus luteus</i>         | +                       | -   | -   | - | +                               | -        | -   | -   | +                             | -   | -   | - |
| <i>Aspergillus niger</i>          | +                       | 2,5 | ±   | - | ±                               | -        | ±   | -   | +                             | 3,5 | +   | - |
| <i>Candida albicans</i>           | +                       | 2,5 | ±   | - | +                               | 1        | ±   | -   | +                             | 5,5 | +   | - |
| <i>Streptococcus pyogenes</i>     | +                       | 2   | +   | - | +                               | -        | +   | -   | +                             | 1,5 | +   | - |
| <i>Streptococcus viridans</i>     | -                       | -   | -   | - | -                               | -        | -   | -   | -                             | -   | -   | - |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>      | +                       | 3   | ±   | - | ±                               | 2<br>(±) | ±   | -   | +                             | 5   | +   | - |

**Таблица 2** – Бактерицидный эффект эфирных масел и препарата ЛФЭ в отношении клеток *M. tuberculosis* H37Rv после совместного инкубирования в течение 24 ч при t=37°C

| Вещество   | Кол-во КОЕ/доза вещества   |                            |
|--|----------------------------|----------------------------|
|  | 100 мг/л                   | 10 мг/л                    |
| Контроль   | $4,8 \pm 0,2 \times 10^4$  | $4,8 \pm 0,2 \times 10^4$  |
| Липосомы   | $3,3 \pm 0,7 \times 10^4$  | $4,1 \pm 0,4 \times 10^4$  |
| Эфирное масло <i>Monarda fistulosa</i>           | $2,7 \pm 0,3 \times 10^3$  | $4,80 \pm 0,3 \times 10^3$ |
| Эфирное масло <i>Tagetes patula</i>              | $3,80 \pm 0,2 \times 10^3$ | $5,0 \pm 0,1 \times 10^3$  |
| Экстракт древесины сосны <i>Pinus silvestris</i> | $1,10 \pm 0,2 \times 10^3$ | $3,0 \pm 0,5 \times 10^3$  |
| ЛФЭ  | $1,1 \pm 0,2 \times 10^3$  | $1,2 \pm 0,4 \times 10^3$  |

**Таблица 3** - Количество клеток МЛУ штаммов *M. tuberculosis* после инкубирования в растворах, содержащих эфирные масла и ЛФЭ, в концентрации 100 мг/л

| Штамм/<br>тестируемый препарат | Контроль                  | Липосомы                  | Эфирное масло <i>Monarda fistulosa</i> | Эфирное масло <i>Tagetes patula</i> | Эфирное масло <i>Pinus silvestris</i> | ЛФЭ «ТАГЕТОН»             |
|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|--|-------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------|
| <i>M. tuberculosis</i> PS-09   | $4,3 \pm 0,1 \times 10^4$ | $4,1 \pm 0,5 \times 10^4$ | $1,3 \pm 0,7 \times 10^3$              | $1,8 \pm 0,7 \times 10^3$           | $1,3 \pm 0,2 \times 10^3$             | $0,5 \pm 0,1 \times 10^3$ |
| <i>M. tuberculosis</i> mR-01   | $4,7 \pm 0,4 \times 10^4$ | $4,2 \pm 0,5 \times 10^4$ | $2,3 \pm 0,7 \times 10^3$              | $2,3 \pm 0,2 \times 10^3$           | $1,0 \pm 0,1 \times 10^3$             | $1,3 \pm 0,7 \times 10^3$ |

**Изучение токсичности препаратов на основе липосомированных  
фитоэкстрактов (ЛФЭ) с помощью модельных систем на культурах клеток  
*in vitro* и *in vivo***

В данном исследовании цитотоксические свойства ЛФЭ оценивали по их способности влиять на уровень жизнеспособности клеток млекопитающих двумя методами – МТТ и АТФ-хемилюминисценции. Изучаемые препараты инкубировали совместно с эукариотическими клетками линии макрофагоподобных клеток J774 мыши, перевиваемой линии фибробластов L929 человека, линии лимфоидных клеток K562 человека и анеуплоидной линии эпителий-подобных клеток HeLaS3 человека. Показано, что испытуемые эфирные масла растений в концентрациях, соответствующих таковым в ЛФЭ, а также липосомы в концентрациях, значительно превышающих их концентрацию в ЛФЭ, не обладают ярко выраженной цитотоксичностью (табл. 4).

**Таблица 4 - Жизнеспособность (%) эукариотических клеток мыши и человека после 24 ч воздействия ЛФЭ (данные теста МТТ)**

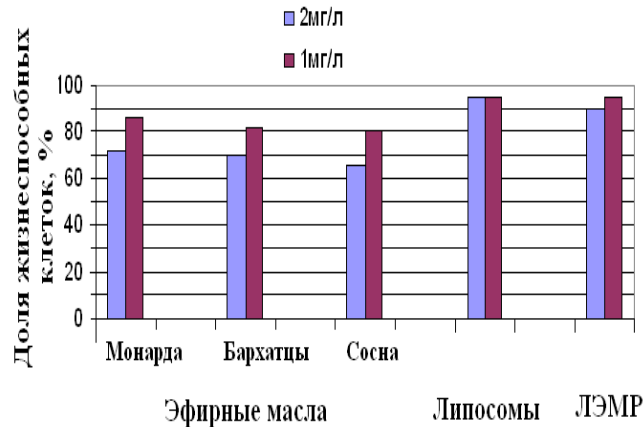
| Препарат                | Концентрация, мг/л | Линия клеток эукариот/<br>Доля жизнеспособных клеток, % |             |             |
|-------------------------|--------------------|---|-------------|-------------|
|                         |                    | J774.1A   | L929        | HeLa S3     |
| Эфирное масло монарды   | 1                  | 99,3 ± 3,23   | 95,7 ± 3,12 | 98,3 ± 4,24 |
|                         | 2                  | 98,7 ± 2,89   | 91,5 ± 2,13 | 91,7 ± 3,49 |
| Эфирное масло бархатцев | 1                  | 97,3 ± 3,24   | 94,7 ± 5,12 | 96,3 ± 4,04 |
|                         | 2                  | 94,5 ± 3,81   | 92,7 ± 4,12 | 92,1 ± 3,14 |
| Эфирное масло сосны     | 1                  | 99,4 ± 3,74   | 98,8 ± 5,32 | 99,4 ± 3,74 |
|                         | 2                  | 96,2 ± 4,25   | 96,5 ± 8,12 | 96,2 ± 4,25 |
| Липосомы                | 10                 | 98,6 ± 4,41   | 98,3 ± 5,71 | 97,5 ± 5,21 |
|                         | 20                 | 97,8 ± 2,23   | 95,7 ± 3,13 | 96,3 ± 3,23 |
|                         | 40                 | 96,6 ± 3,48   | 99,1 ± 7,20 | 99,8 ± 5,44 |
| Физраствор              | -                  | 100   | 100         | 100         |

Токсичность готовой формы комплексного препарата ЛФЭ так же определяли методами МТТ и АТФ-метрии. Результаты представлены на Рис 2.

Опыты по презентации ЛФЭ *in vivo* при внутрибрюшинном введении выявили снижение жизнеспособности нейтрофильных клеток перитонеального экссудата мышей линии C57Bl (рис.3) Было зафиксировано, что после инъекции препарата «ТАГЕТОН» у грызунов не наблюдалось видимых признаков токсического действия.



**Рисунок 2** – Изучение влияния препарата «ТАГЕТОН» и его компонентов на жизнеспособность клеточных культур



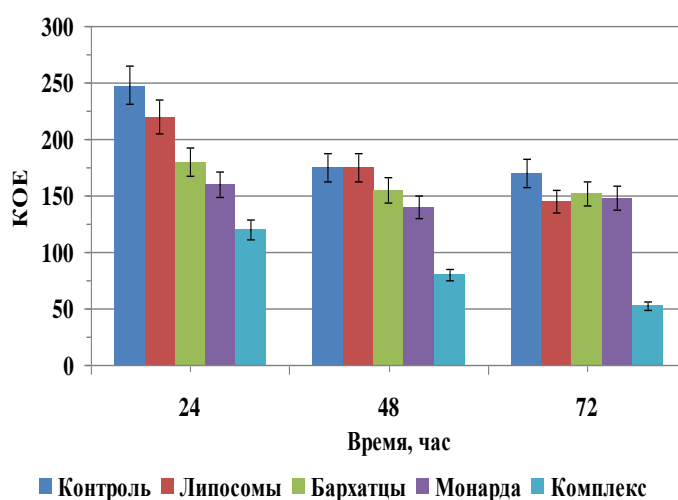
**Рисунок 3** – Изучение цитотоксического действия эфирных масел растений, липосом и ЛФЭ, введенных мышам линии С57В1 внутривенно

### Влияние ЛФЭ на переживание клеток штамма *M. tuberculosis* H37Rv в мышинных перитонеальных макрофагах и в культивируемых макрофагоподобных клетках линии J774

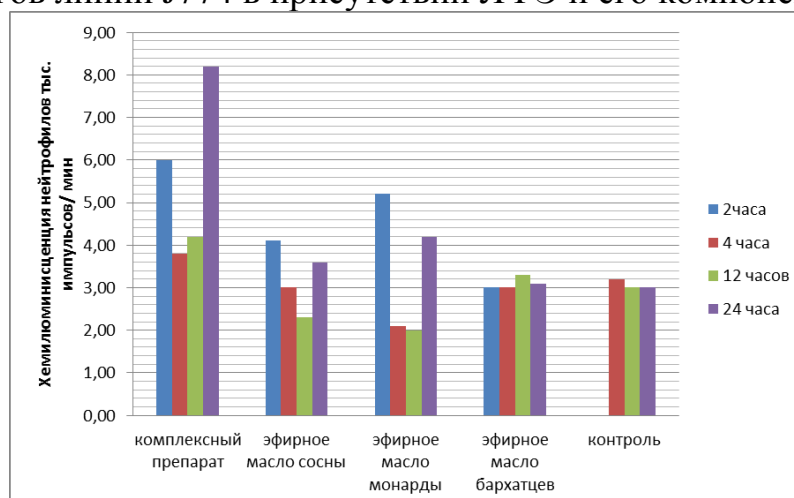
Экспериментальные данные показывают, что концентрация клеток штамма *M. tuberculosis* H37Rv в мышинных перитонеальных макрофагах и в культивируемых макрофагоподобных клетках линии J774 после воздействия ЛФЭ имеет тенденцию к снижению. Способность клеток *M. tuberculosis* к переживанию в макрофагах клеточной линии J774 при добавлении в среду культивирования ЛФЭ или его компонентов достоверно снижается, по-видимому, потому, что данные препараты способствуют завершению фагоцитоза (киллингу микроорганизмов) клетками линии J774 (рис. 4).

Таким образом, показано положительное влияние препаратов ЛФЭ на завершенность фагоцитоза микобактерий макрофагоподобными клетками, что указывает на наличие протективного эффекта данных препаратов.

Активацию бактерицидных свойств другого рода фагоцитов - нейтрофилов – оценивали по состоянию системы генерации бактерицидного фактора – супероксид аниона. Для оценки изменения уровня продукции радикальных форм кислорода нейтрофилами, выделенными от этих мышей, под воздействием зимозана (неспецифического индуктора хемилюминесценции (ХЛ)) предварительно аэрозольно обрабатывали экспериментальных мышей линии С57В1 перечисленными выше препаратами ЛФЭ использована. На рис. 5 представлены данные по сравнению уровней ХЛ нейтрофилов перитонеального экссудата, выделенных от мышей, обработанных фитоэкстрактами, и от контрольных (не подвергавшихся такой обработке).



**Рисунок 4** – Переживание микобактерий *M. tuberculosis* H37Rv внутри макрофагов линии J774 в присутствии ЛФЭ и его компонентов



**Рисунок 5** - Кинетика хемилюминесценции нейтрофилов, выделенных от мышей линии С57В1, аэрозольно обработанных препаратами фитоэкстрактов в дозе  $10^{-4}$  мкг/мышь, после стимуляции зимозаном в концентрации  $10^{-2}$  г/л.

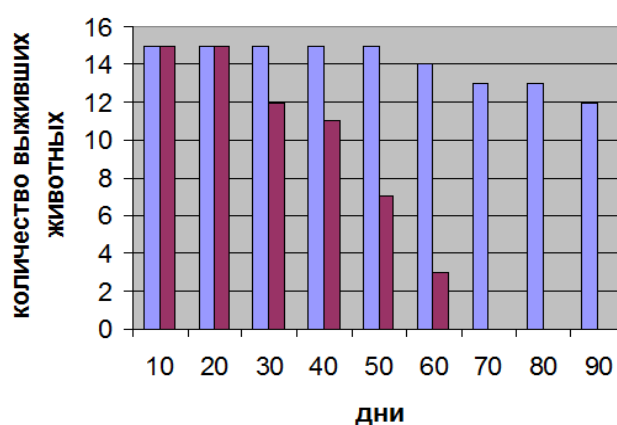
Показано, что для нейтрофилов, полученных от мышей, аэрозольно обработанных препаратом ЛФЭ уровень активации «окислительного взрыва» через 24 ч в эксперименте выше в 2 раза по сравнению с контролем.

Таким образом, комплексный препарат ЛФЭ при аэрозольном применении на мышах линии С57В1 показал наиболее выраженную потенцирующую активность в отношении генерации радикальных форм нейтрофилами мыши, по сравнению с препаратами отдельных фитоэкстрактов.

### Изучение возможности аэрозольного применения ЛФЭ для лечения и профилактики туберкулезной инфекции на моделях острого и хронического процессов

Для аэрозольной обработки препаратами ЛФЭ мышей линии С57В1, больных туберкулезом в острой форме (после ретроорбитального введения клеток *M. tuberculosis* H37Rv в дозе  $10^6$  КОЕ/мышь), была использована аэрозольная камера GLAS-COL (США).

Лечение мышей линии С57В1 препаратами ЛФЭ в течение семи дней обеспечило снижение смертности и уменьшение содержания микобактерий в органах опытных животных в 10 раз (рис. 6).



**Рисунок 6** – Динамика выживаемости мышей линии С57В1 на фоне применения ЛФЭ в дозе  $10^{-4}$  мкг/животное

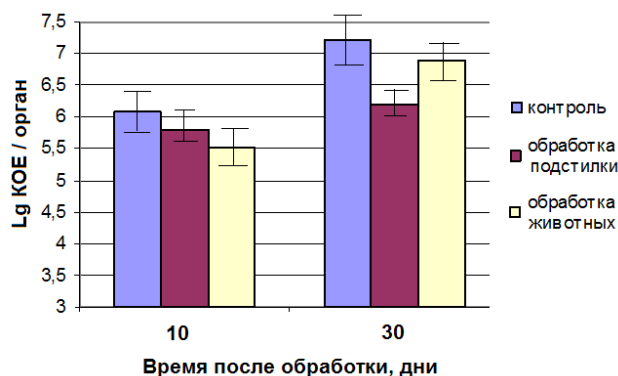
Экспериментально установлено, что аэрогенная доставка ЛФЭ больным хроническим туберкулезом животным ежедневно в течение 20-30 сут. снижала у них обсеменённость лёгких микобактериями на два порядка (табл. 5).

**Таблица 5** – Количество микобактерий в легких мышей линии С57В1 после аэрозольного лечения препаратами ЛФЭ

| Вариант обработки | Длительность лечения, дни |                           |                           |                           |
|-------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                   | 0                         | 10                        | 20                        | 30                        |
| Контроль          | $9,1 \pm 1,1 \times 10^4$ | $8,3 \pm 0,9 \times 10^4$ | $8,6 \pm 0,6 \times 10^4$ | $8,9 \pm 1,2 \times 10^4$ |
| ЛФЭ               | $9,1 \pm 1,1 \times 10^4$ | $7,0 \pm 1,4 \times 10^4$ | $8,1 \pm 0,9 \times 10^3$ | $2,1 \pm 0,8 \times 10^2$ |



Показано, что содержание животных на подстилке, обработанной липосомальным препаратом, также снижало обсеменённость органов экспериментальных животных, причем данный эффект был более выражен, чем при обработке самих животных (рис.7).



**Рисунок 7** - Концентрация микобактерий штамма *M. tuberculosis* H37Rv в легких мышей, больных хроническим туберкулезом, после аэрозольной обработки препаратом «ТАГЕТОН» животных и подстилки в изоляторах

Таким образом, показана эффективность препаратов ЛФЭ при аэрозольном применении как для обработки больных животных, так и для обработки окружающего пространства.

### Изучение возможности использования ЛФЭ для предотвращения передачи возбудителя туберкулеза от больных животных здоровым

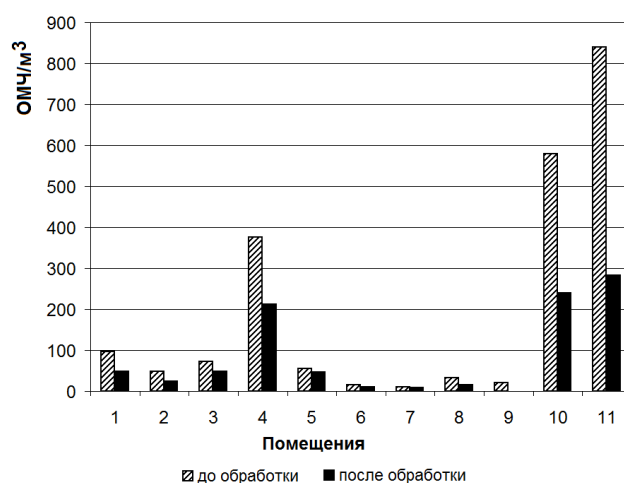
Возможность использования ЛФЭ в качестве средств, предотвращающих передачу заболевания от больных туберкулезом животных здоровым, показана на модели морских свинок, при совместном содержании в микроизоляторах здоровых животных и больных острой формой туберкулеза. Опытный изолятор, с содержащимися в нем одной больной и четырьмя здоровыми животными, обрабатывали аэрозольно ~ 2 мл препарата ЛФЭ один раз в сутки в течение 55 дней. По данным микробиологического исследования органов животных, только одна из четырех свинок опытного изолятора оказалась инфицированной *M. tuberculosis*, в то время как в контрольном изоляторе инфицированными оказались все четыре исходно здоровые морские свинки (табл. 6).

**Таблица 6** – Содержание клеток *M. tuberculosis* в органах больных острым туберкулезом и здоровых морских свинок после совместного содержания

| Морские свинки | Количество микобактерий в органе, КОЕ |                           |                                   |                           |
|----------------|---------------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|---------------------------|
|                | Контрольный микроизолятор             |                           | Микроизолятор, обрабатываемый ЛФЭ |                           |
|                | легкое                                | селезенка                 | легкое                            | селезенка                 |
| Больная        | $9,9 \pm 1,4 \times 10^6$             | $7,1 \pm 0,7 \times 10^5$ | $6,5 \pm 0,3 \times 10^6$         | $3,8 \pm 0,7 \times 10^5$ |
| Здоровая 1     | $9,9 \pm 0,9 \times 10$               | $3,2 \pm 0,4 \times 10^2$ | $2,5 \pm 1,4 \times 10^2$         | $4,9 \pm 1,4 \times 10^0$ |
| Здоровая 2     | $1,5 \pm 0,8 \times 10^2$             | $5,4 \pm 1,0 \times 10^3$ | 0                                 | 0                         |
| Здоровая 3     | $7,9 \pm 1,4 \times 10^3$             | $7,9 \pm 1,4 \times 10^2$ | 0                                 | 0                         |
| Здоровая 4     | 0                                     | $5,8 \pm 0,4 \times 10^2$ | 0                                 | 0                         |

## Изучение эффективности применения препаратов ЛФЭ для снижения уровня контаминации в помещениях медицинского назначения методом аэрозольной обработки

Изучение эффективности аэрозольного применения комплексного препарата ЛФЭ проводили изменением показателя ОМЧ (КОЕ/м<sup>3</sup>) в медицинских кабинетах, где сохраняется рабочий режим. Пробы воздуха объемом 100 л для бактерий и 200 л для грибов, согласно МУК 4.2.2942-11.4.2, отбирали в больничных помещениях с помощью аспиратора для отбора проб воздуха ПУ-1Б (ЗАО «Химко», Россия) в трехкратной повторности. Обработка помещения препаратом в 2-3 раза снизила соответственные показатели (рис. 8).



**Рисунок 8** - Изучение эффективности средств для очищения воздуха в помещениях медицинского назначения: 1 - микробиологическая лаборатория; 2 - микробиологический бокс; 3 - кабинет бронхоскопии; 4 - кабинет колоноскопии; 5 - ординаторская; 6 - кабинет биохимических исследований; 7 - кабинет гематологических исследований; 8 - приемная главного врача; 9 - кабинет главного врача; 10 - стоматологический кабинет-1; 11 - стоматологический кабинет-2

### Оценка перспективности применения препаратов ЛФЭ в рамках программ реабилитации больных туберкулезом в лечебно-профилактических учреждениях

Полученные на модельных животных данные по противотуберкулезной активности ЛФЭ были использованы для обоснования возможности применения данных препаратов в рамках программы ранней реабилитации больных ТБ. Аэрозольная обработка воздушного пространства помещений Государственного учреждения здравоохранения Московской области «Серпуховский противотуберкулезный диспансер» (ГУЗ МО СПТД) была включена в комплекс лечебных мероприятий наряду с выполнением предписаний лечащего врача по антибиотикотерапии и специфической противотуберкулезной патогенетической терапии.

Исследования проводились в течение 1,5 лет, в процессе которых были условно созданы 2 группы больных (n = 128), разделенных по принципу аналогов. Основная группа состояла из 64 человек, получавших комплексное лечение в помещениях, регулярно обрабатываемых аэрозольным препаратом ЛФЭ «ТАГЕТОН»; контрольная - 64 человека со сходными анамнезами, получали такое же комплексное лечение, но в их палатах не проводили обработку. Оценку состояния здоровья и клинических показателей больных осуществляли в течение трех месяцев после начала исследования. Было отмечено положительное влияние фактора обработки воздуха помещений препаратом ЛФЭ. Критериями оценки служили такие параметры: кашель, выделение мокроты, хрипы в легких, которые были зафиксированы у большинства больных в обеих группах. Через 30 дней после начала применения ЛФЭ перечисленные признаки исчезали у 60 % пациентов основной группы, в то время как в контрольной группе эти симптомы исчезали только у 30 % больных; синдром туберкулезной интоксикации (субфебрильная температура, выделение пота, быстрая утомляемость), который изначально присутствовал у ~80 % пациентов в обеих группах, полностью исчезал у пациентов основной группы, в то время как у всех пациентов в контрольной группе он сохранялся на прежнем уровне; синдром патологии на уровне гематологических показателей (повышенная скорость оседания эритроцитов, лимфопения, палочкоядерный сдвиг) после завершения эксперимента у больных в основной группе отмечался в два раза реже, чем у больных в контрольной группе.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе проведенных исследований созданы липосомированные комплексные препараты фитоэкстракта из древесины сосны *Pinus silvestris* и эфирных масел бархатцев мелкоцветковых *Tagetes patula* и монарды дудчатой *Monarda fistulosa*, которые обладают синергидной антимикробной активностью в отношении широкого круга условно-патогенных микроорганизмов и в отношении возбудителя туберкулеза. Установлено, что именно липосомированная форма данных препаратов обеспечивает их стабильность при хранении, а также синергизм бактерицидного действия фитонцидов. Экспериментально показано, что созданные препараты нетоксичны для эукариотических клеток. При аэрозольном применении липосомированных препаратов фитонцидов продемонстрировано снижение обсемененности микобактериями паренхиматозных органов мышей линии С57В1, больных туберкулезом. На модели морских свинок показана возможность использования липосомированных фитоэкстрактов для

профилактики заражения туберкулезом. Установлено, что аэрозольная обработка воздушного пространства помещений лечебного профиля разработанными средствами обеспечивает снижение уровня микробной контаминации этих помещений, а также является перспективной для использования в программах ранней реабилитации больных туберкулезом.

## ВЫВОДЫ

1. Фитонциды, выделенные из древесины сосны *Pinus silvestris*, в сочетании с эфирными маслами бархатцев мелкоцветковых *Tagetes patula* и монарды дудчатой *Monarda fistulosa*, а также липосомированный комплексный препарат фитоэкстрактов обладают синергидной антимикробной активностью в отношении вирулентного штамма *M. tuberculosis* H37Rv, множественно-резистентных штаммов *M. tuberculosis* PS-09 и *M. tuberculosis* mR-01 и широкого круга условно-патогенных микроорганизмов.

2. Включение композиций фитоэкстрактов в фосфатидилхолиновые липосомы обеспечивает их стабильность и синергизм бактерицидного действия их компонентов в отношении перечисленных выше микроорганизмов.

3. Препараты, созданные на основе липосомированных фитоэкстрактов, не оказывают токсического действия на эукариотические клетки, что показано на культурах клеток линии эпителиальных клеток матки человека HeLaS3 и макрофагоподобных клеток мыши J774.

4. Аэрозольное применение липосомированного комплексного препарата фитонцидов эффективно для лечения хронического туберкулеза на модели мышей линии C57Bl и для профилактики заражения туберкулезом на модели морских свинок.

5. Обработка воздуха помещений лечебно-профилактических учреждений препаратами липосомированных фитоэкстрактов обеспечивает улучшение показателей микробной чистоты воздуха, а также клинических показателей у туберкулезных больных, что позволяет обосновать целесообразность применения этих препаратов в практике комплексного лечения туберкулеза в условиях противотуберкулезных диспансеров.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи в научных журналах, рекомендованных ВАК

1. Михайлова И.В. Новое направление в области профилактики туберкулеза / И. В. Михайлова, Е. В. Чёрный, З. Х. Корнилова, **О. И. Чубатова**, В. Д. Потапов, Г. А. Угодчиков, С. А. Чубатова // Безопасность жизнедеятельности. - 2013. - №5. – С. 2-7.

2. Горячева Л.А. Наполнение кожи липосомными композициями / Горячева Л.А., **Чубатова О.И.**, Чиркова Н.А // Кожевенно-обувная промышленность. - 2011. – Т. 2. - № 11. - С.33-34.

3. Акопян В.Б. Изменение свойств водных растворов при их ультразвуковом распылении / Акопян В.Б., Бамбура М.В., **Чубатова О.И.**, Давидов Е.Р., Ступин А.Ю.// Акустический журнал.-2009.-Т.55.-№4-5.-С.684-688.

4. Акопян В.Б. Ультразвуковой метод сепарации поверхностно-активных веществ, адсорбированных на границе раздела жидкость – газ / Акопян В.Б., Бамбура М.В., **Чубатова О.И.**, Давидов Е.Р., Ступин А.Ю. // Журнал физической химии.-2010. – Т.84.- №3.- С.425-428.

5. Ступин А.Ю. Использование прополиса в пищевых эмульсиях, полученных с применением ультразвука / Ступин А.Ю., **Чубатова О.И.**, Грузинов Е.В., Никитина Э.С. // Пищевая промышленность.- 2010.-Т. 2.- С.54 - 56.

6. Ивашов С.В. Оценка антимикробной активности липосомированных экстрактов некоторых видов растений для обработки воздуха помещений / Ивашов С.В., Михайлова Е.Г., **Чубатова О.И.**, Борзенкова Т.Х., ВострокнUTOва Г.Н., Негрий Н.В., Ступин А.Ю., Батыров Ф.А., Фурсова Н.К., Чубатова С.А. // Растительные ресурсы. – 2012. - Т. 48. – Вып. 1. – с. 127-137.

#### Патенты

7. Пат. RU 2311449 С2 Российская Федерация, МПК С11В1/00 (2006.01) А61К9/50 (2006.01) А61К9/127 (2006.01) Способ получения липосомальной композиции / Чубатова С.А., **Чубатова О.И.**; заявитель и патентообладатель Чубатова С.А., Чубатова О.И.- № заявл. 2005139800/13, 20.12.2005; опубл. 27.06.2007.

8. Пат. RU 2393903 С1 Российская Федерация, МПК В01D3/00 (2006.01) Способ выделения поверхностно активной компоненты из жидкой гетерогенной среды / Акопян В.Б., **Чубатова О.И.**, Бамбура М.И., Давидов Е.Р., Ступин А.Ю. - заявитель и патентообладатель ОАО «Государственный научно-исследовательский институт биосинтеза белковых веществ» (RU)- № заявл. 2008144469/15, 11/11/2008; опубл. 10.07.2010.

9. Пат. RU 2394416 С1 МПК А01F25/00 (2006.01) Способ кондиционирования растительного сырья / Ступин А.Ю., **Чубатова О.И.**, Рухман А.А.- заявитель и патентообладатель ОАО «Государственный научно-исследовательский институт биосинтеза белковых веществ» (RU)- № заявл. 2008144472/12, 11.11.2008; опубл. 20.07.2010.

10. Пат. RU 2393905 С1 МПК В01D11/04 (2006.01) Способ экстрагирования / Ступин А.Ю., **Чубатова О.И.**, Пашинин А.Е. – заявитель и патентообладатель ОАО «Государственный научно-исследовательский институт биосинтеза белковых веществ» (RU) - № заявл. 2008144471/15, 11.11.2008; опубл. 10.07.2010.

11. Пат. RU 2452470 С1 МПК А61К 9/127 А61К 36/61 А61К 36/537 А61К 36/53 А61К 36/28 А61К 36/288 А61К 36/15 А61К 36/57 А61Р 31/06 Композиция из взвеси липосом для профилактики и лечения воздушно-капельных инфекций, в частности туберкулёза (варианты), и способ её аэрогенной доставки / Чубатова С.А., **Чубатова О.И.**, Зурабов А.Ю., Потапов В.Д., ВострокнUTOва Г.Н. - заявитель и патентообладатель - Чубатова С.А., **Чубатова О.И.**, Зурабов А.Ю., Потапов В.Д., № заявл. 2011105717/15, 16.02.2011; опубл. 10.06.2012 Бюл. №16.

#### Публикации в других изданиях

12. Михайлова Е.Г. Снижение уровня микробной контаминации воздушного пространства стоматологических кабинетов / Михайлова Е.Г., Копецкий И.С., **Чубатова О.И.**, Клунникова Н.М., Подольский Ю.С. // Стоматологический научно-образовательный журнал. – 2012. - #3/4. – С.58-63

13. Михайлова Е.Г. Эффективность применения средств на основе природных антисептиков в медицинских учреждениях / Михайлова Е.Г., **Чубатова О.И.**, Копецкий И.С. // Научно-практический журнал «Медицинский вестник МВД». - 2012. - № 3. – Т. LVIII - С.54-60.

14. Чубатова С.А. Современный метод ароматерапии или новое направление в использовании липосом / Чубатова С.А., **Чубатова О.И.**, Потапов В.Д. // Сырье и упаковка. -2011. – Т.10.- С. 17-20

#### **Тезисы научных коференций**

15. Бамбура. М.В. Древесная смола – ценный отход основного производства / М. В. Бамбура, И. Н. Овешников, **О.И. Чубатова**, А. Е. Пашинин, А. Ю. Ступин. // Биотехнология: состояние и перспективы развития: материалы пятого Московского международного конгресса. – М., 16-20 марта 2009 г.

16. Бамбура М.В. Получение микро- и наноразмерных частиц ультразвуковым распылением в жидких и газовых средах / М.В. Бамбура, **Чубатова О.И.**, Т.В. Вышенская, В.П. Тычинская, А.Ю. Ступин // Материалы выставки РУСНАНОЭКСПО.- декабрь 2009;

17. Fursova N. Mix of Phytoncides Enclosed in Liposomes Protects Mice against TB Infection / Fursova, S. Chubatova, **О.Chubatova**, I. Bakhteeva, G. Titareva // Poster # F1-1361 on the 51th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy.- Chicago, IL, USA.- September 17-20, 2011;

18. Михайлова Е.Г. Целесообразность комплексного применения гигиенических средств на основе бактериофагов и фитокомпозиций / Е.Г. Михайлова, **О.И.Чубатова**, Ю.С. Подольский, Г.А. Угодчиков // Материалы конференции 12 международный форум и выставка ВЫСОКИЕ ТЕХНОЛОГИИ XXI ВЕКА, 18-21 апреля 2011 г;

19. Потапов В.Д. Аэрогенный способ применения средств на основе липосом / В.Д. Потапов, **О.И.Чубатова**, П.А. Шрамко, Т.И. Комбарова // Материалы конференции 12 международный форум и выставка ВЫСОКИЕ ТЕХНОЛОГИИ XXI ВЕКА, 18-21 апреля 2011 г.;

20. Чубатова О.И. Защита от инфекций — один факторов долголетия: эффективность средств индивидуальной и коллективной защита / **О.И. Чубатова**, В.Д. Потапов, С.И. Акимов // 2-й Всемирный форум «Евразийские высокие технологии — развитие активного долголетия» - Москва.- Россия.- 7-9 ноября 2012 г.

### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

**АТФ** - аденозинтрифосфат

**ВПП** – воздушное пространство помещений

**ЗФР** - забуференный физиологический раствор

**КОЕ** – колониеобразующие единицы

**ЛП** - липосомы

**ЛПУ** - лечебно-профилактическое учреждение

**ЛФЭ** - липосомированные фитоэкстракты

**МБТ** – микобактерия туберкулёза

**МЛУ** – множественная лекарственная устойчивость

**ММТ** - (3[4,5-диметилтиазол-2-yl]-2,5 дифенилтетразолиумбромид),

**МПБ** – мясо-пептонный бульон

**ФЭ** – фитоэкстракты

**ХЛ** - хемилюминесценция

**ЭДС** – экстракт древесины сосны обыкновенной (*Pinus silvestris*)

**ЭМ** - эфирное масло

**ЭМБ** – эфирное масло бархатцев мелкоцветковых (*Tagetes patula*)

**ЭМИ** – эфирное масло иссопа лекарственного (*Hyssopus officinalis*)

**ЭММ** – эфирное масло монарды дудчатой (*Monarda fistulosa*)

**ЭШ** – экстракт шалфея