

БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ НАТИВНИХ І МОДИФІКОВАНИХ ЛІПОПОЛІСАХАРИДІВ *Pragia fontium*

Л. Д. ВАРБАНЕЦЬ¹, В. В. ШУБЧИНСЬКИЙ¹, С. І. ПОХИЛ², І. Й. СЕЙФУЛЛІНА³,
Н. В. ШМАТКОВА³, С. Е. САМБУРСЬКИЙ³

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

²Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечнікова АМН України, Харків;

³Одеський національний університет ім. І. І. Мечнікова, Україна;

e-mail: varbanets@serv.imv.kiev.ua

Одержано ліпополісахариди (ЛПС) трьох штамів бактерії *Pragia fontium*, які модифікували комплексними сполуками германію (IV) – з 2-амінобензоїлгідрозом саліцилового альдегіду (2-NH₂-H₂Bs), 2-гідроксibenзоїлгідрозом саліцилового альдегіду (2-OH-H₂Bs) і нікотиноїлгідрозом саліцилового альдегіду (H₂Ns). Модифікацію ЛПС було підтверджено ІЧ-спектрометричним методом. Результати порівняльних досліджень свідчать, що тільки ЛПС *P. fontium* штаму 20125, який модифіковано координаційною сполукою германію з 2-OH-H₂Bs, не має пірогенної дії. В реакціях подвійної імунодифузії в агарі в гомологічній системі виявлено, що всі модифіковані ЛПС, на відміну від нативних, повністю втрачають антигенну активність.

Ключові слова: *Pragia fontium*; ліпополісахариди, нативні і модифіковані координаційними сполуками германію; пірогенна і антигенна дія.

Ліпополісахариди (ЛПС) – основні компоненти зовнішньої мембрани клітинної оболонки грамнегативних бактерій – характеризуються широким спектром фізіологічної дії на організм теплокровних тварин, виявляючи як позитивні, так і негативні ефекти, передусім високу токсичність та пірогенність [1, 2]. Незважаючи на те, що вивчення ЛПС було розпочато ще в 40 рр. ХХ ст., проблема й досі не втратила актуальності. Інтерес до досліджень в цьому аспекті визначається тим, що на молекулярному та клітинному рівнях біологічну активність ЛПС майже не вивчено, хоча з'ясування її пов'язано з вирішенням фундаментальних питань імуногенезу та клітинної рецепції. Крім того, біологічні властивості ЛПС продовжують цікавити практичну медицину у зв'язку з розробленням ефективних засобів боротьби із захворюваннями людини, що спричинюють грамнегативні бактерії. Істотний інтерес мають підходи, які використовують останнім часом для одержання хімічно модифікованих полімерів з метою спрямованої дії на їхню біологічну активність.

У зв'язку з цим метою роботи було порівняльне вивчення біологічної активності (антигенної та пірогенної) нативних і хімічно модифікованих ЛПС штамів нового виду ентробактерій *Pragia fontium*.

Матеріали і методи

Як об'єкти дослідження використовували 3 штами бактерії *Pragia fontium*: два з них виділили з питної води – штами 20125 (типовий) і 28203, а один із колодязної – штам 96U101.

Культури вирощували на синтетичному рідкому середовищі N [3] в умовах орбітального шейкера (220 об./хв) при температурі 28 °С протягом 24 год. Виділення та очищення ЛПС проводили методом О. Westphal і К. Jann [4]. ЛПС екстрагували 45%-м водним фенолом при 65–68 °С. Одержані водні фракції діалізували спочатку проти водопровідної, а потім проти дистильованої води – до встановлення нейтрального значення рН.

ЛПС із 3%-го водного розчину очищали від нуклеїнових кислот ультратрацентрифугуванням упродовж 4 год при 105 000 g. При цьому в супернатанті залишалися нуклеїнові кислоти, а ЛПС випадали в осад, який після розчинення в мінімальній кількості води ліофілізували [5].

Для ідентифікації моносахаридів препарати гідролізували 2 М. HCl упродовж 5 год при 100 °С, потім відновлювали та проводили ацетилювання [6]. Ацетати поліолів аналізували хромато-мас-спектрометричним методом на приладі марки AGILENT 6890/5973 N, застосовуючи колонки DB-225 mS

(30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм). Газ носій – гелій, швидкість потоку колонкою – 1 мл/хв, температура випаровувача – 250 °С, інтерфейса – 280 °С, термостата – 220 °С (режим ізотермічний). Пробу вводили з діленням потоку 1 : 100. Моносахариди ідентифікували, порівнюючи час утримання ацетатів поліолів досліджуваних зразків зі стандартними, а також використовуючи комп'ютерну базу даних ChemStation. Кількісне співвідношення окремих моносахаридів визначали у відсотках загальної суми площ піків.

Антисироватку до нагрітих клітин *P. fontium* (100 °С, 2,5 год) отримували із крові імунізованих кролів. Імунізацію проводили шляхом п'ятиразового внутрішньовенного введення кролям суспензії клітин *P. fontium* зі зростаючими концентраціями (від 1·10⁷ до 16·10⁸) з інтервалами між ін'єкціями 7 діб. Забір крові здійснювали на 7-у добу після останньої імунізації. Антигенну активність ЛПС досліджували методом подвійної імунодифузії в агарі, описаним у статті [7].

Пірогенну дію ЛПС вивчали на кролях із масою тіла 2,0–3,5 кг [5]. Термометрію здійснювали електронним термометром (Omron Matsusaka Co. Ltd, Японія), який вводили до прямої кишки на 5–7 см (залежно від маси тварини). Попередньо визначали імунореактивність кролів шляхом внутрішньовенно-

го введення їм 10 мл/кг 0,9%-го стерильного непірогенного розчину хлориду натрію. Досліджувані препарати ЛПС, розчинені у стерильному непірогенному ізотонічному розчині, витримували 10 хв при 37 °С, після чого їх внутрішньовенно вводили тваринам (1 мл/кг маси тіла). Мінімальну пірогенну дозу ЛПС тестували в серії розведень від 0,5 до 1,0×10⁻² мг/мл. Кожен із цих розчинів перевіряли на трьох кролях, близьких за масою тіла (різниця не перевищувала 0,5 кг). Перед введенням тваринам розчину ЛПС у них двічі вимірювали температуру з інтервалом 30 хв. Різниця в температурі не перевищувала 0,2 °С. Тварин, які не відповідали цьому критерію, в експериментах не використовували. Останню виміряну температуру вважали вихідною. Розчин ЛПС вводили кролям через 15–20 хв після останнього визначення температури. Наступні вимірювання її здійснювали після триразового введення тваринам ЛПС (інтервал – 1 год). Розчин його вважали непірогенним, якщо сума підвищених температур у трьох кролів зменшувалась або дорівнювала 1,4 °С. У разі збільшення її понад 2,2 °С розчин вважали пірогенним.

Для одержання ЛПС, модифікованих комплексними сполуками германію I–III (табл. 1), нами було розроблено такий метод. Спочатку готували робочі розчини їх (кон-

Таблиця 1. Схема модифікації ЛПС, виділених із *P. fontium*, комплексними сполуками германію

Штами бактерій, з яких виділено ЛПС	Комплексні сполуки германію	Об'єм компонентів для модифікації ЛПС, мл		Співвідношення між ЛПС* і комплексними сполуками Ge, мг/мг
		ЛПС	Комплексні сполуки германію	
20125	I	0,30	0,20	20125 : I = 4,00 : 2,31
20125	II	0,30	0,20	20125 : II = 4,00 : 2,32
20125	III	0,30	0,20	20125 : III = 4,00 : 2,20
96U101	I	0,40	0,30	96U101 : I = 6,56 : 3,47
96U101	II	0,40	0,30	96U101 : II = 6,56 : 3,48
96U101	III	0,40	0,30	96U101 : III = 6,56 : 3,3
28203	I	0,30	0,15	28203 : I = 3,33 : 1,73
28203	II	0,30	0,15	28203 : II = 3,33 : 1,74
28203	III	0,30	0,15	28203 : III = 3,33 : 1,65

Примітка. Тут і в табл. 2 та на рис. 2 і 3: I – комплексна сполука Ge з 2-амінобензоїлгідрозом саліцилового альдегіду (2-NH₂-H₂Bs); II, III – комплексні сполуки германію з гідроксибензоїлгідрозом саліцилового альдегіду (2-OH-H₂Bs) та з нікотиноїлгідрозом саліцилового альдегіду (H₂Ns) відповідно. *У колонці наведено штами бактерій, з яких виділено ЛПС.

центрація 0,02 моль/л) в диметилсульфоксиді (ДМСО) та модифікованих ЛПС – у суміші H_2O і ДМСО (1 : 3) при кімнатній температурі. Вміст ЛПС, виділених із штамів *P. fontia* 20125, 96U101 та 28203 становив у суміші 12,0/0,9 мл, 19,68/1,20 мл і 10,0/0,9 мл відповідно. Для модифікації певні об'єми відповідних ЛПС змішували з комплексними сполуками германію I–III. Суміші витримували 1,0–1,5 год при 80 °С до одержання істинних розчинів, об'єм яких після охолодження доводили до 2 мл. Співвідношення між ЛПС і комплексними сполуками германію наведено в табл. 1.

Результати та обговорення

Відомо, що ЛПС грамнегативних бактерій притаманні мітогенна активність, індукування фактора некрозу пухлин, інтерлейкіну-1, γ -інтерферону, антиметастатична та антилейкозна дія, а також радіопротекторний, імунокорегувальний, протипухлинний і інші позитивні ефекти [1, 2]. Однак можливість їхнього застосування в медичній практиці ускладнюється через високий рівень токсичності, проза-

пальної активності та пірогенності. Вивчення токсичності і пірогенності ЛПС *P. fontium* [8] показує, що вони менш токсичні, ніж ЛПС *Escherichia coli*, але деяким із них порівняно з пірогеналом властива підвищена пірогенність. Одним із ефективних шляхів впливу на біологічні властивості ЛПС є хімічна модифікація.

У попередніх дослідженнях [9] нами були одержані модифіковані діоксидом германію ЛПС унаслідок взаємодії з їхніми функціональними групами: OH^- , $COOH^-$, HPO_4^{2-} . Така модифікація сприяла утворенню координаційної сполуки германію з ЛПС зі значно пониженою токсичністю. На сьогодні безперечним є той факт, що координаційні зв'язки змінюють хімічні властивості будь-яких лігандів, унаслідок чого здатність їх до тих чи інших хімічних перетворень може послаблюватись або посилюватись. Це, у свою чергу, впливає на їхню біологічну активність.

У дослідженнях для модифікації ЛПС використовували стійкі в ДМСО комплексноелектролітів, в яких реалізовано властиве германію координаційне число 6. Під час скри-

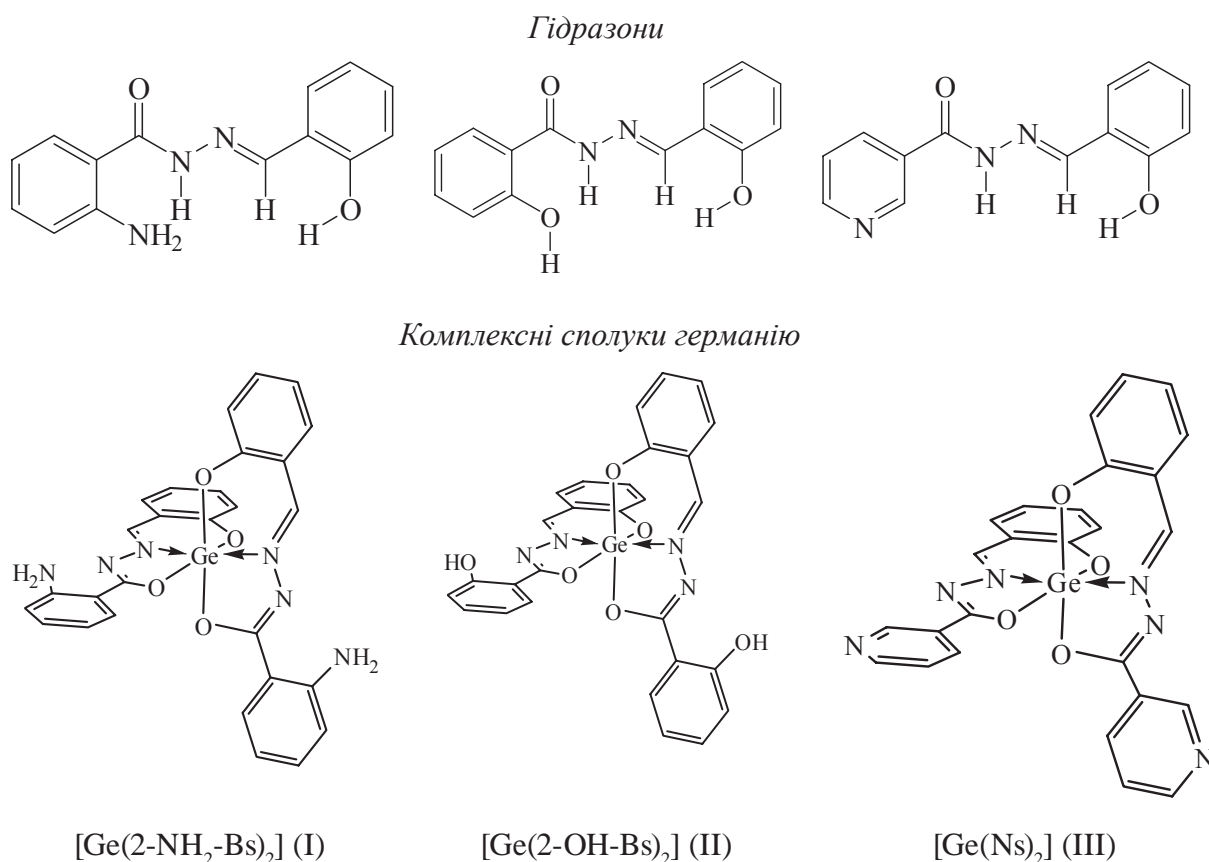


Рис. 1. Будова гідразонів і відповідних комплексів германію

нінгу модифікаторів ЛПС керувались такими підходами:

- Підібрати для синтезу комплексних сполук германію близькі за природою біологічно активні ліганди (L); цим вимогам відповідають 2-амінобензоїлгідрозон саліцилового альдегіду (2-NH₂-H₂Bs), 2-гідроксибензоїлгідрозон саліцилового альдегіду (2-OH-H₂Bs) і нікотиноїлгідрозон саліцилового альдегіду (H₂Ns), що відрізняються тільки функціональними групами (NH₂, OH, N_{py}) в гідрозидному фрагменті молекули (рис. 1).

- На основі підібраних лігандів (L) синтезувати нові комплексні сполуки германію I, II та III відповідно: L – [Ge(2-NH₂-Bs)₂], L – [Ge(2-OH-Bs)₂], L – [Ge(Ns)₂], які були б однаковими за мольним співвідношенням в них металу, октаедричним координаційним поліедром германію, засобом координації та формою ліганду (рис. 1).

Ліганди і комплексні сполуки германію характеризували сукупними фізико-хімічними методами дослідження: ІЧ-спектроскопією, ¹H- і ¹³C-ЯМР, мас-спектрометрією, електропровідності, термогравиметрією, а також рентгеноструктурного аналізу (комплексна сполука I) [10–12]. З огляду на те, що у складі комплексних сполук германію наявні електронегативні центри (акцептори), а в ЛПС донори водневих зв'язків (ОН-, СООН-, НРО₄²⁻), то цілком обгрунтовано можна було очікувати утворення супрамолекулярних ансамблів, оскільки через відносно сильну і спрямовану природу водневий зв'язок вважається «ключовою взаємодією» в супрамолекулярній хімії. Відомо, що водневі зв'язки визначають загальну форму багатьох протеїнів, структуру подвійної спіралі ДНК і сприяють розпізнаванню субстратів численними ензимами [13].

Якщо М ЛПС прийняти близькою до 20 000 г/моль, то скрізь витримано співвідношення в молях ЛПС : I, II, III = 1: 20, що, зважаючи на наявність у молекулі ЛПС величезної кількості функціональних груп, є доцільним.

Одержання модифікованих ЛПС було підтверджено шляхом порівняння ІЧ-спектрів нативних ЛПС *P. fontium* шт. 28203 із кристалічними зразками, модифікованими комплексними сполуками германію I–III, які ізолювали з концентрованих розчинів після подальшого нагрівання їх при 80 °С. ІК-спектри поглинання (350–4000 см⁻¹) зразків, таблетованих із КВr, записували на спектрофотографі Speccord-75 IR.

Незважаючи на складну будову, у спектрі ЛПС зареєстровано незначну кількість

смуг поглинання, ідентифікація яких не викликає особливих труднощів: [ν(OH) + ν(NH) = 3422 см⁻¹, ν(CH) = 2925 і 2854 см⁻¹, ν_{as}(COO⁻) = 1653, 1647, 1636 см⁻¹ (розщеплена), що характерно для кислот із внутрішніми водневими зв'язками – ν_s(COO⁻) = 1420 см⁻¹, δ(OH) = 1375 см⁻¹, ν(P=O) = 1239 см⁻¹, ν(P-O-C) = 1072 см⁻¹ (рис. 2, А). Зазвичай, наведені спектри властиві сполукам із рівноцінними функціональними групами та симетричною будовою.

На відміну від цього, ІЧ-спектри модифікованих ЛПС (рис. 2, Б; 2, В і 2, Г) подібні, хоча і значно складніші. Вірогідно можна ідентифікувати тільки смуги ν(OH) + ν(NH) = 3431 см⁻¹, ν(CH) = 2925 і 2854 см⁻¹, як, наприклад, у спектрі ЛПС, модифікованого комплексною сполукою германію I. При цьому спостерігається значне збільшення кількості характеристичних частот в області 1570–1150 см⁻¹, з якими пов'язані валентні коливання зв'язків: (P=O), (P-O-C), (C-O) і δ(OH). Це відбувається внаслідок взаємодій коливань зазначених груп, які особливо чутливі до змін характеру водневих зв'язків. Виникає нова система водневих зв'язків між функціональними групами ЛПС (ОН-, СООН- та Н₂РО₄⁻) і донорними центрами комплексних сполук I–III, що зумовлює утворення нових супрамолекулярних ансамблів із симетрією, яка значно менша за таку в ЛПС. Слід відзначити, що такі зміни супроводжуються викривленням октаедричного поліедра германію і збільшенням довжин зв'язків Ge–O, Ge–N. Це підтверджується зменшенням частот їхніх коливань в ІЧ-спектрах, модифікованих комплексними сполуками германію I–III відповідно: ν(Ge–O) = 656, 690 та 665 см⁻¹; ν(Ge–N) = 621, 615 та 615 см⁻¹. У комплексних сполуках германію ν(Ge–O) = 670, 710 та 683 см⁻¹; ν(Ge–N) = 640, 630, 626 см⁻¹.

Відомо, що з ліпідом А пов'язані всі ендотоксичні властивості ЛПС. Дані порівняльних досліджень пірогенної дії нативних і модифікованих ЛПС (табл. 2, рис. 3) показують, що лише в одному випадку модифікація ЛПС спричинює зміну пірогенної активності: координаційна сполука ЛПС штаму 20125 із комплексною сполукою германію II втрачає пірогенну дію. Це, ймовірно, свідчить, що у процесах модифікації цього ЛПС беруть участь не основні компоненти ліпиду А, внаслідок чого молекула ЛПС втрачає ендотоксичну конформацію, яка відповідає за пірогенність.

Оскільки ЛПС є основними антигенами грамнегативних бактерій, які обумовлюють їхні специфічні імунологічні властивості, то

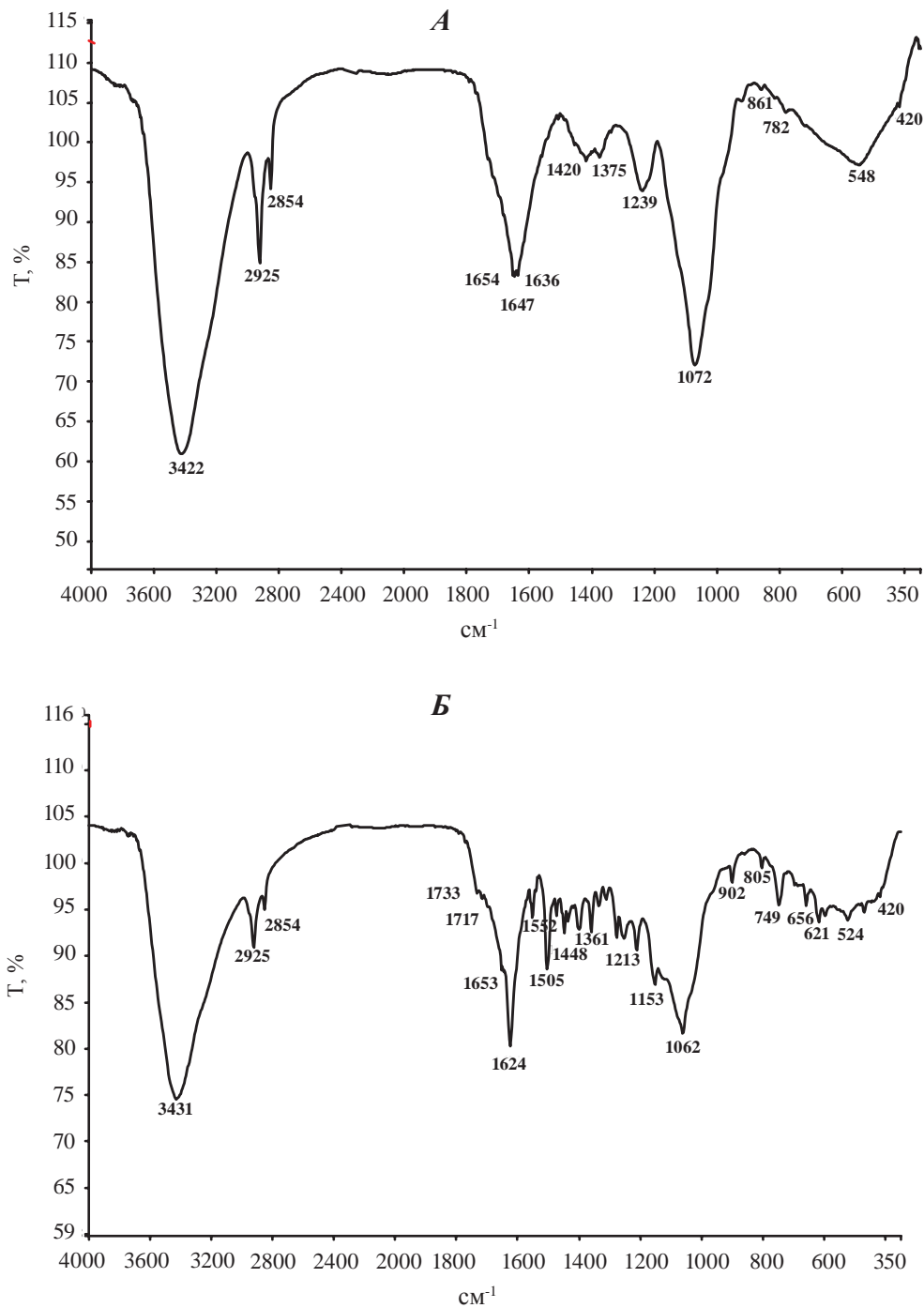


Рис. 2. ІЧ-спектри ЛПС *R. fontium* 28203: нативного (А) та модифікованого комплексною сполукою германію І (Б)

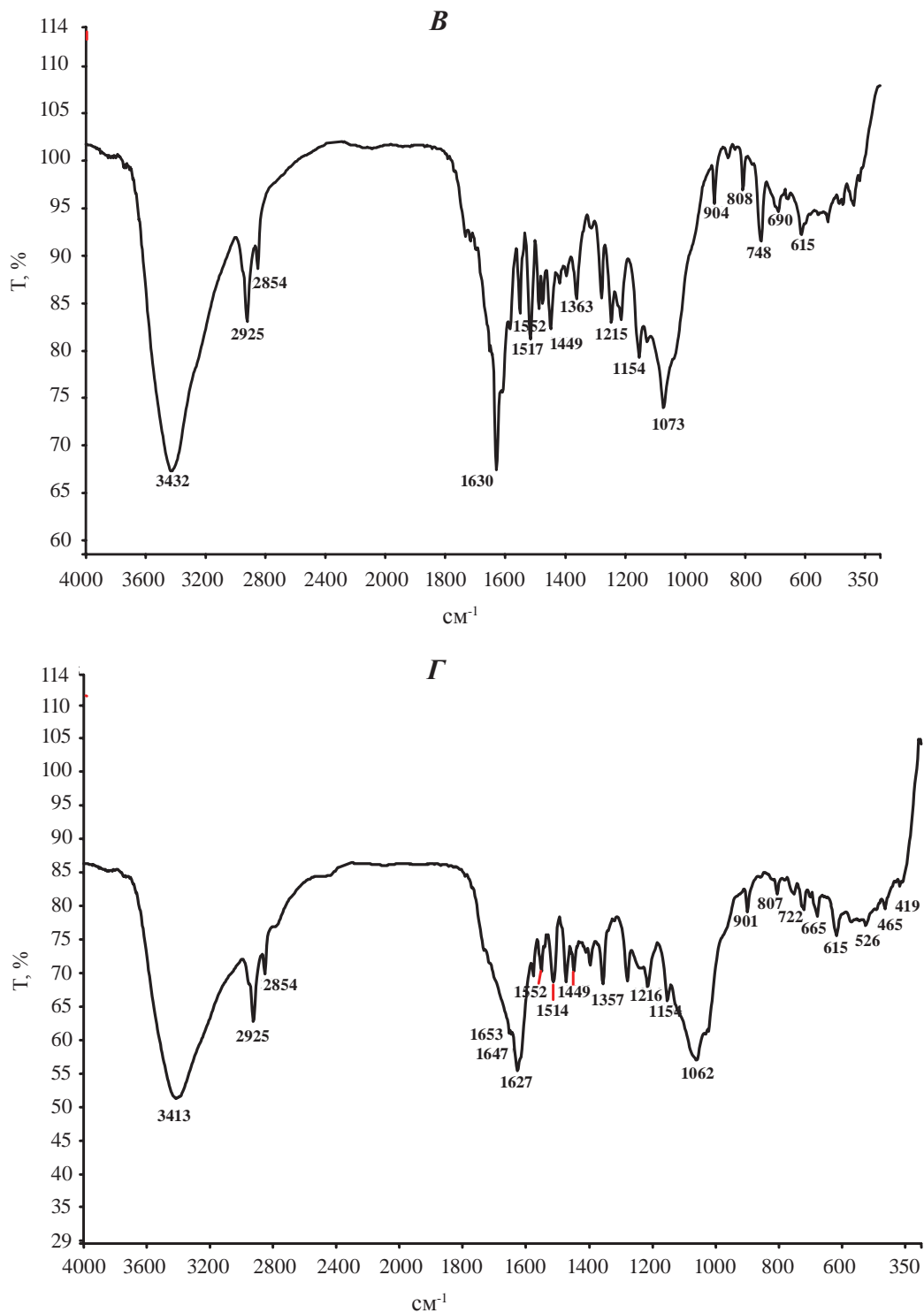


Рис. 2. ІЧ-спектри ЛПС *R. fontium* 28203, модифікованих комплексними сполуками германію – II (В) та III (Г)

Таблиця 2. Пірогенна дія нативних і модифікованих комплексними сполуками германію ЛПС *P. fontium* штамів 20125, 28203 і 96U101 та пірогеналу

Бактеріальні штами, з яких виділено ЛПС	Модифікатори ЛПС: комплексні сполуки Ge	Середнє значення відхилення температури (°C) у кролів після введення їм ЛПС через:		
		1 год	2 год	3 год
20125	—	+0,83	+1,20	+1,50
20125	I	+0,41	+0,80	+0,90
20125	II	+0,45	+0,19	+0,19
20125	III	+0,91	+0,34	+0,21
28203	—	+0,45	+0,77	+0,98
28203	I	+0,45	+0,57	+0,75
28203	II	+0,90	+0,70	+1,04
28203	III	+0,77	+0,50	+0,30
96U101	—	+0,87	+1,21	+1,58
96U101	I	+0,87	+1,10	+1,21
96U101	II	+0,64	+0,30	+0,50
96U101	III	+0,93	+1,15	+1,41
пірогенал		+0,50	+0,69	+0,70

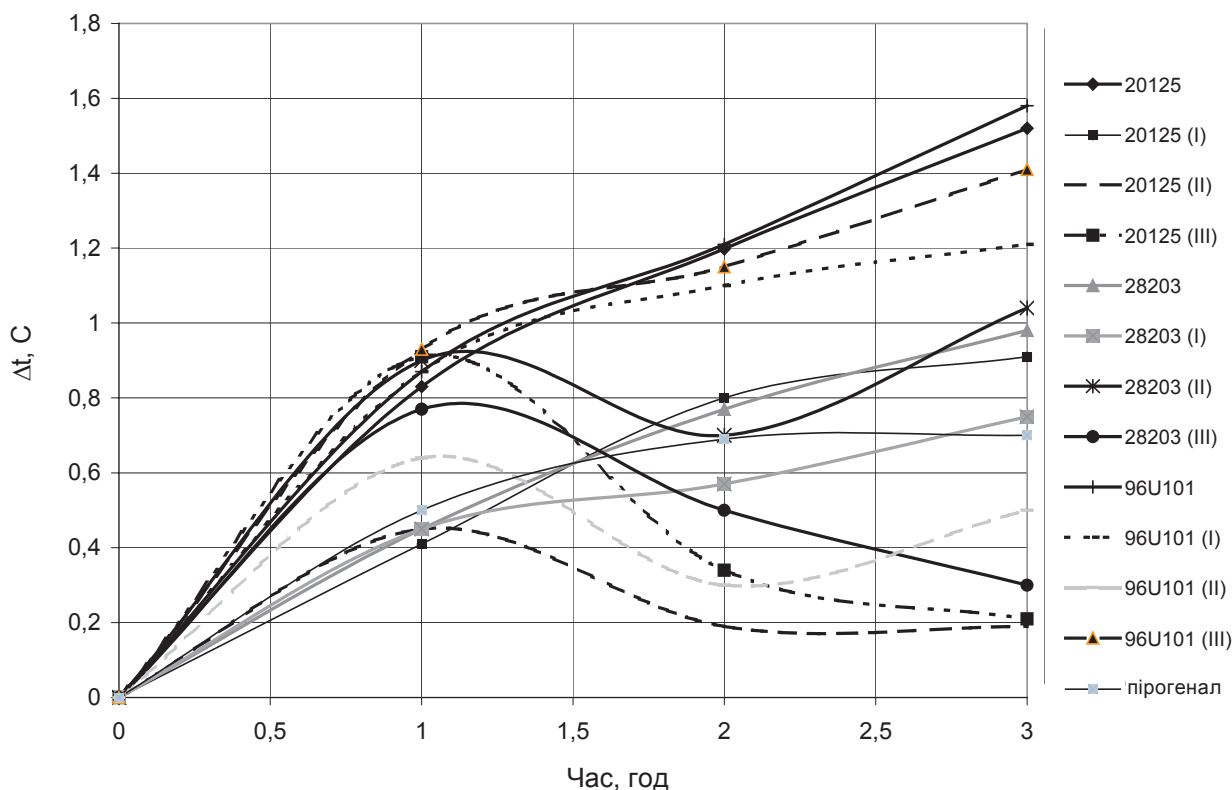


Рис. 3. Пірогенна дія нативних і модифікованих комплексними сполуками германію ЛПС *P. fontium* штамів 20125, 28203 і 96U101 та пірогеналу

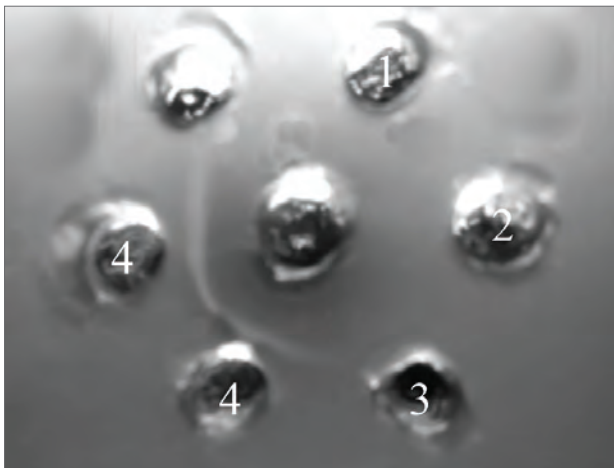


Рис. 4. Реакція подвійної імунодифузії в агарі за Оухтерлоні О-антисироватки до *P. fontium* шт. 20125: з нативним ЛПС (4), з модифікованими ЛПС комплексними сполуками германію з 2-NH₂-H₂Bs (1), 2-OH-H₂Bs (2) та H₂Ns (3)

виникає питання, чи впливає їхня модифікація на антигенну активність? Для одержання відповіді на це запитання нами були отримані антисироватки до культур усіх досліджуваних штамів *P. fontium*, а в реакціях подвійної імунодифузії в агарі проведено порівняльне вивчення антигенної активності нативних і модифікованих ЛПС. Як свідчать результати, наведені на рис. 4–6, модифіковані ЛПС, на відміну від нативних, повністю втрачають антигенну ак-

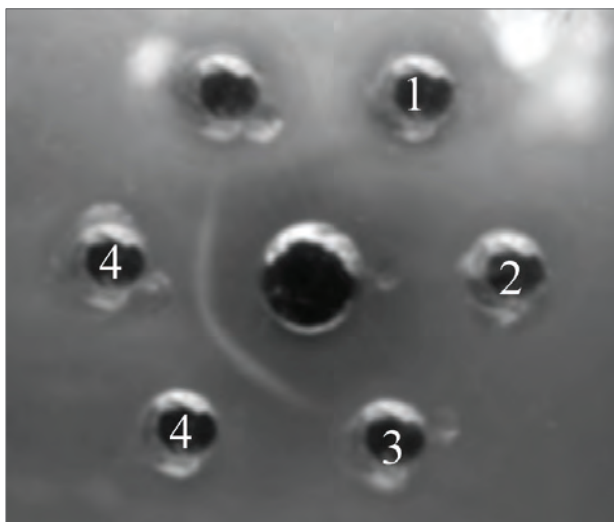


Рис. 6. Реакція подвійної імунодифузії в агарі за Оухтерлоні О-антисироватки до *P. fontium* шт. 96U101: з нативним ЛПС (4), з модифікованими ЛПС комплексними сполуками германію з 2-NH₂-H₂Bs (1), 2-OH-H₂Bs (2) та H₂Ns (3)



Рис. 5. Реакція подвійної імунодифузії в агарі за Оухтерлоні О-антисироватки до *P. fontium* шт. 28203: з нативним ЛПС (4); з модифікованими ЛПС комплексними сполуками германію з 2-NH₂-H₂Bs (1), 2-OH-H₂Bs (2) та H₂Ns (3)

тивність у гомологічній системі. Це вказує на те, що в утворенні координаційних сполук з германієвими похідними беруть участь вільні гідроксильні групи моносахаридів (компоненти молекули О-специфічного полісахариду), тому що саме він відповідає за антигенну активність ЛПС.

Аналіз моносахаридного складу ЛПС свідчить, що досліджувані штами *P. fontium* належать до неоднакових хемотипів (табл. 3). ЛПС із штаму 20125 є представником другого хемотипу. У складі його молекули домінують такі моносахариди, як глюкоза (70,0%) і галактоза (24,7%). Для ЛПС третього хемотипу (шт. 96U101) характерна наявність у молекулі глюкози (49,8%), галактози (18,4%) та рамнози (23,9%), а для ЛПС четвертого хемотипу (шт. 28203) – глюкози (38,5%), галактози (25,5%), рамнози (10,0%) і манози (19,5%). Оскільки всі три модифікувальні комплексні сполуки германію виявили однакову дію і спричинили втрату серологічної активності, то можна припустити, що це пов'язано з відмінностями не у складі модифікувальних сполук, а саме з наявністю в них іона германію. Таке припущення підтверджується даними щодо моносахаридного складу ЛПС. Імовірно, це обумовлено вільними сусідніми гідроксильними групами у молекулах моносахаридів, з якими здатні взаємодіяти іони германію, що модифікують групи, пов'язані з антигенною активністю ЛПС досліджуваних штамів.

Таблиця 3. Моносахаридний склад ЛПС, виділених із різних штамів *P. fontium*

Моносахариди, % до загальної суми площ піків	Штами <i>P. fontium</i>		
	20125	28203	96U101
Рамноза	0	10 ± 2,1	23,9 ± 1,0
Маноза	0	19,5 ± 2,4	0
Галактоза	24,7 ± 1,1	25,5 ± 1,4	18,4 ± 1,2
Глюкоза	70,0 ± 1,7	38,5 ± 2,0	49,8 ± 1,5
Гептоза	5,30 ± 0,54	6,50 ± 1,02	7,90 ± 0,87

Таким чином, отримано ліпополісахариди *P. fontium*, які модифіковані комплексною сполукою германію з 2-NH₂-H₂Bs, 2-OH-H₂Bs та H₂Ns. Модифікацію ЛПС було доведено ІЧ-спектрометрією. Результати порівняльних досліджень пірогенної дії нативних і модифікованих ЛПС свідчать, що тільки один із них, виділений із штаму 20125 і модифікований координаційною сполукою германію з 2-OH-H₂Bs, втратив пірогенну дію. В реакціях подвійної імунодифузії в агарі в гомологічній системі виявлено, що всі модифіковані ЛПС, на відміну від нативних, повністю втрачають антигенну активність.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НАТИВНЫХ И МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ *Pragia fontium*

Л. Д. Варбанец¹, В. В. Шубчинский¹,
С. И. Похил², И. И. Сейфуллина³,
Н. В. Шматкова³, С. Е. Самбурский³

¹Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины, Киев;

²Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова АМН Украины, Харьков;

³Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, Украина;
e-mail: varbanets@serv.imv.kiev.ua

Получены липополисахариды (ЛПС) *Pragia fontium*, модифицированные комплексами германія (IV) с 2-аминобензоилгидразоном салицилового альдегида (2-NH₂-H₂Bs), 2-гидроксибензоилгидразоном салицилового альдегида (2-OH-H₂Bs) и никотиноилгидразоном салицилового альдегида (H₂Ns). Получение модифицированных ЛПС подтверждено ИК-спектрометрией. Результаты сравнительных исследований пирогенной активности свидетельствуют о том, что только ЛПС из штамма

20125, модифицированного координационным соединением германія с 2-OH-H₂Bs, утратил пирогенное действие. В реакциях двойной иммунодиффузии в агаре в гомологичной системе показано, что все модифицированные ЛПС, в отличие от нативных, полностью утратили антигенную активность.

Ключевые слова: *Pragia fontium*; липополисахариды, нативные и модифицированные координационными соединениями германія; пирогенная и антигенная активность.

BIOLOGICAL ACTIVITY OF NATIVE AND MODIFIED LIPOPOLYSACCHARIDES OF *Pragia fontium*

L. D. Varbanets¹, V. V. Shubchinskiy¹,
S. I. Pokhyl², I. I. Seifullina³,
N. V. Shmatkova³, S. E. Samburskiy³

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

²Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology, Academy of Medical Science of Ukraine, Kharkiv;

³Mechnikov National University, Odessa, Ukraine;
e-mail: varbanets@serv.imv.kiev.ua

Summary

Modified lipopolysaccharides (LPS) of *Pragia fontium* were obtained with germanium complexes (IV) of 2-aminobenzoylhydrazon of salicylic aldehyde (2-NH₂-H₂Bs), 2-hydroxybenzoylhydrazon salicylic aldehyde (2-OH-H₂Bs) and nicotinoylhydrazon of salicylic aldehyde (H₂Ns). The modification of LPS was confirmed by IR spectroscopy. Comparative investigations of pyrogenic activity of native and modified LPS showed, that only *P. fontium* 20125 LPS, modified by germanium complexes with 2-hydroxybenzoylhydrazon of salicylic aldehyde (2-OH-H₂Bs) has lost the pyrogenic ac-

tivity. In the homological reactions of double immunodiffusion in agar it was shown that all modified LPS unlike the native ones lose completely antigenic activity.

Key words: *Pragia fontium*, lipopolysaccharides, native and modified by coordinative compounds of germanium, pyrogenic and antigenic action.

1. *Структура і біологічна активність бактеріальних біополімерів* / Під ред. В. К. Позура. — К.: Київ. ун-т, 2003. — 305 с.
2. Raetz C. R. H., Whitfield C. // *Annu. Rev. Biochem.* — 2002. — **71**. — P. 635–700.
3. Vidaver A. // *Appl. Microbiol.* — 1967. — **15**, N 6. — P. 1523–1524.
4. Westphal O., Jann K. // *Methods in Carbohydrate Chemistry* — New York, Acad. Press. — 1965. — **5**. — P. 83–91.
5. Варбанець Л. Д., Здоровенко Г. М., Книрель Ю. А. *Методи дослідження ендотоксинів*. — К.: Наук. думка, 2006. — 237 с.
6. Albershein P., Nevis D. J., English P. D., Karr A. // *Carbohydr. Res.* — 1976. — N 3. — P. 340–345.
7. Ouchterlony O. // *Prog. Allergy.* — 1962. — **6**. — P. 3–15.
8. Шубчинський В. В., Варбанець Л. Д., Броварська О. С. // *Соврем. пробл. токсикол.* — 2007. — № 4. — С. 35–38.
9. Варбанець Л. Д., Рибалко С. Л., Дядюн С. Т., Броварська О. С. // *Мікробіол. журн.* — 1998. — **60**, № 4. — С. 80–87.
10. Сейфуллина И. И., Шматкова Н. В., Старикова З. А. // *Журн. неорган. химии.* — 2005. — 50, № 7. — С. 201–212.
11. Шматкова Н. В., Сейфуллина И. И., Ткаченко В. Н. // *Укр. хим. журн.* — 2005. — **71**, № 1. — С. 23–27.
12. Сейфуллина И. И., Шматкова Н. В., Старикова З. А. // *Журн. неорган. химии.* — 2004. — **49**, № 3. — С. 401–407.
13. Стид Д. В., Стид Д. Л. *Супрамолекулярная химия*. — М: Академкнига, 2007. — 479 с.

Отримано 21.05.2008