

УДК 591.441+ 615.361.014. 413.451.16

<https://doi.org/10.24959/ubphj.20.252>Л. В. ІВАНОВ¹, О. В. ЩЕРБАК², Л. В. ДЕРИМЕДВІДЬ³, В. Г. КРАВЧЕНКО⁴, О. П. БЕЗУГЛА⁵¹ Інститут хімії поверхні імені О. О. Чуйка НАН України, Україна² Харківська державна зооветеринарна академія, Україна³ Національний фармацевтичний університет, Україна⁴ Українська медична стоматологічна академія, Україна⁵ Науково-технологічний комплекс «Інститут монокристалів» НАН України, Україна

Вивчення молекулярно-масового розподілу фракцій водного екстракту тканини свинячої плаценти методом високоефективної гель-проникаючої хроматографії

Актуальність. Косметичні засоби на основі плаценти досить широко використовуються в усьому світі.

Мета роботи. Дослідити склад водорозчинних фракцій свинячої плаценти (ВЕСП) та спорідненість їх компонентів до модельних мембран.

Матеріали та методи. Методом високоефективної гель-проникаючої хроматографії вивчено молекулярно-масовий розподіл фракцій ВЕСП. Молекулярні маси встановлювали за часом утримання на колонці реперних речовин. Для вивчення спорідненості пептидів ВЕСП до модельних мембран ліпосом з фосфатидилхоліном використовували метод флуоресцентних зондів.

Результати та їх обговорення. ВЕСП містить достатню кількість (24,2 %) коротких пептидів і вільних амінокислот, велику кількість низькомолекулярних пептидів тієї чи іншої молекулярної маси. Пептиди ВЕСП ефективно зв'язуються з ліпосомами фосфатидилхоліну.

Висновки. Водорозчинні фракції свинячої плаценти завдяки багатому хімічному складу є перспективною сировиною для створення косметологічних засобів.

Ключові слова: водний екстракт свинячої плаценти; метод високоефективної гель-проникаючої хроматографії; косметичні засоби

L. Ivanov¹, O. Shcherbak², L. Derymedvid³, V. Kravchenko⁴, O. Bezugla⁵¹ Chuiko Institute of Surface Chemistry National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine² Kharkiv State Zoo Veterinary Academy, Ukraine³ National University of Pharmacy, Ukraine⁴ Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava, Ukraine⁵ State Scientific Institution "Institute for Single Crystals" of National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine

Study of the molecular mass fractions distribution of porcine placenta aqueous extract by the method of highly efficient gel permeation chromatography

Topicality. Placenta-based cosmetics are widely used all over the world.

Aim. To investigate the composition of water-soluble porcine placenta fractions and to study the similarity of their components to model membranes.

Materials and methods. The molecular weight distribution of the VESP fractions was studied by high-performance gel permeation chromatography. Molecular weights were determined by the retention time on the column of reference substances. To study the similarity of VESP peptides for model liposome membranes with phosphatidylcholine, the method of fluorescent probes was used.

Results and discussion. VESP contains a sufficient number (24.2 %) of short peptides and free amino acids, a large number of low molecular weight peptides of one or another molecular weight. VESP peptides effectively bind to phosphatidylcholine liposomes.

Conclusions. Due to its rich chemical composition, VESP is a promising raw material for the creation of cosmetic products.

Key words: pork placenta aqueous extract; high performance gel permeation chromatography method; cosmetic products

Л. В. Иванов¹, Е. В. Щербак², Л. В. Деримедведь³, В. Г. Кравченко⁴, Е. П. Безуглая⁵¹ Институт химии поверхности имени А. А. Чуйко НАН Украины, Украина² Харьковская государственная зооветеринарная академия, Украина³ Национальный фармацевтический университет, Украина⁴ Украинская медицинская стоматологическая академия, Украина⁵ Научно-технологический комплекс «Институт монокристаллов» НАН Украины, Украина

Исследование молекулярно-массового распределения фракций водного экстракта свиной плаценты методом высокоэффективной гель-проникающей хроматографии

Актуальность. Косметические средства на основе плаценты широко используются во всем мире.

Цель работы. Исследовать состав водорастворимых фракций свиной плаценты (ВЭСР) и средство их компонентов к модельным мембранам.

Материалы и методы. Методом высокоэффективной гель-проникающей хроматографии изучено молекулярно-массовое распределение фракций ВЭСП. Молекулярные массы устанавливали по времени удерживания на колонке реперных веществ. Для изучения сродства пептидов ВЭСП к модельным мембранам липосом с фосфатидилхолином использовали метод флуоресцентных зондов.

Результаты и их обсуждение. ВЭСП содержит достаточное количество (24,2 %) коротких пептидов и свободных аминокислот, большое количество низкомолекулярных пептидов той или иной молекулярной массы. Пептиды ВЭСП эффективно связываются с липосомами фосфатидилхолина.

Выводы. Водорастворимые фракции свиной плаценты благодаря богатому химическому составу являются перспективным сырьем для создания косметических средств.

Ключевые слова: водный экстракт свиной плаценты; метод высокоэффективной гель-проникающей хроматографии; косметические продукты

ВСТУП

В останні десятиліття в багатьох країнах світу відбувається бурхливий розвиток біотехнологій, пов'язаних з виділенням біологічно активних речовин (БАР) з фетальної сировини і різних ксенорганів з подальшим створенням на їх основі біопрепаратів і косметологічних засобів [1-12].

Одним із перспективних напрямків у цій галузі є використання фетальної сировини, насамперед, плаценти [1]. Препарати на основі плаценти успішно застосовуються в різних галузях медицини, переважно – в гінекологічній, хірургічній та дерматологічній практиці. На фоні використання препаратів плаценти спостерігалось зменшення набрякості тканин, прискорення процесів епітелізації і ангиогенезу (вочевидь, обумовлене підвищенням фактора росту фібробластів на початкових стадіях регенерації і фактора росту ендотелію судин у пізній фазі) при рановому процесі [2].

Сформувалася нова галузь косметології – плацентарна косметологія. Це пов'язано з різноманітними та великими потенційними можливостями БАР, що містяться у тканинах і органах. Японська косметологічна компанія Japan Bioproducts, що є лідером плацентарної косметології у світі, використовує плаценту свиней чорнушок, що мають у плаценті найбільшу кількість фактора росту, який використовується у препаратах. Екстракти фільтрують через молекулярні сита – 1000-100000, непотрібні речовини видаляють. Ці витяжки містять екстракт плаценти, гіалуронат натрію, церіброзит, гліциризинат дикалію. Плацентарний екстракт, що міститься в есенції, регенерує і оживляє фібробласти, приводячи рівень синтезу колагену, гіалуронової кислоти і еластину шкіри в норму. Есенція ідеально відновлює шкіру після стресів, відбілює її та омолоджує. Високий вміст натурального плацентарного екстракту забезпечує стійкий ліфтинг і профілактику старіння шкіри за рахунок активації вироблення колагену, еластину і гіалуронової кислоти. Регулярне застосування даної есенції за рахунок вираженого зміцнення матриксу шкіри дає ефект кругової підтяжки. Інші екстракти містять екстракт плаценти, гіалуронат натрію, гідролізований розчин тварин протеїнів, дистильовану воду, пропілпарабен. Наприклад, лосьйон «GHC Lotion» ефективно впливає на всі патогенетичні причини старіння – активізує функцію фібробластів, нормалізує

меланогенез, стимулює регенерацію на клітинному рівні, має антиоксидантний захист, ефективний захист від УФ-випромінювань.

Сучасними дослідженнями доведено, що плацента – багате джерело унікальних біологічно активних речовин, завдяки яким екстракт плаценти має такі властивості: імунорегулюючі, регенеративні (відновлювальні), нейропротекторні, протизапальні та знеболюючі, протиалергічні, протипухлинні [1, 6, 12]. Очищений від гормонів концентрований розчин плаценти – це каталізатор всіляких клітинних обмінних процесів. Він містить вітаміни, амінокислоти, білки, чинники зростання клітин, що підбадьорюють фібробласти і виробляють більше колагену. Засоби на основі плаценти ефективні при акне; вони підтягують шкіру, розгладжують зморшки, зменшують пігментацію, покращують колір обличчя [11].

Недоліком робіт, присвячених цій проблемі, часто є недостатній аналіз природи БАР, що екстрагуються, фракціонування та аналіз за допомогою сучасних методів, включаючи ВЕГПХ, а також комплексне вилучення і дослідження гідрофільних БАР біологічної тканини.

Мета роботи. Дослідити склад водорозчинних фракцій свинячої плаценти (ВЕСП) та спорідненість їх компонентів до модельних мембран.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для дослідження використовували тканину свинячої плаценти. Розморожену і ретельно відмиту від крові тканину плаценти свині вагою 1 кг чистили від слизу, подрібнювали ножицями до часток розміром приблизно 50 × 50 мм і гомогенізували за допомогою електром'ясорубки. Отриманий гомогенізатор заливали 1 л охолодженої до 15 °С дистильованої води, ретельно перемішували до отримання гомогенної суспензії і додавали 7 г лимонної кислоти з метою знебарвлення суспензії. Для екстракції водорозчинних пептидів суспензію плаценти витримували в ємності впродовж 1,5 годин при повільному перемішуванні, після чого давали відстоятися впродовж 15 хвилин. Біологічно активні речовини у вигляді супернатанту в кількості 1 л декантували, а отриманий водний екстракт плаценти відфільтровували за допомогою мембранних фільтрів типу «Міліпор» з діаметром 1-3 мкм. Отриманий водний екстракт плаценти був прозорою, дещо жовтуватою рідиною з характерним слабким

запахом з рН від 3,8 до 4,5. Сухий залишок складав не менше 6 % і не більше 7 %. Застосовувались методи спектрофотометрії і високоефективної гель-проникаючої хроматографії (ВЕГПХ).

Отриманий водний екстракт плаценти досліджували за допомогою ВЕГПХ. За даними гель-хроматографії визначався фракційний склад (за молекулярною масою) водного екстракту плаценти свині. Поділ проводили в умовах визначення високомолекулярних домішок в інсуліні відповідно до методики фармакопеї США 23 вид. Молекулярні маси встановлювали за часом утримування реперних речовин – фенілаланіну (мол. м. 172), інсуліну (мол. м. 5600), димеру інсуліну (мол. м. близько 11000), бичачого сироваткового альбуміну (мол. м. 65000). Для визначення природи фракцій препарату, що різняться молекулярною масою, були отримані УФ-спектри в діапазоні від 220 до 400 нм. Використовували рідинний хроматограф фірми Waters, модель Alliance з діод-матричним детектором та програмним забезпеченням Міленіум 32, версія 51.

Умови аналізу: колонка TSK SW 2000 розміром 7,5 × 600 мм. Рухлива фаза: фосфатний буферний розчин з сульфатом натрію – ацетонітрилом (90 : 10), дегазована будь-яким зручним способом, швидкість рухливої фази 1 мл/хв, об'єм проби – 20 мкл. Приготування рухливої фази: 32,21 г натрію фосфорнокислого однозаміщеного двоководного вміщують у мірну колбу місткістю 1 л, розчиняють в 500 мл води, доводять об'єм водою до мітки і перемішують (розчин А); 71,64 г натрію фосфорнокислого двозаміщеного дванадцятиводного вміщують у мірну колбу місткістю 1 л, розчиняють в 500 мл води, доводять об'єм водою до мітки і перемішують (розчин Б); 32,22 г натрію сірчанокислого десятиводного вміщують у мірну колбу місткістю 1 л, розчиняють у 300 мл води, додають 312,5 мл розчину А і 187,5 мл розчину Б, перемішують, додають 100 мл ацетонітрилу, перемішують і доводять об'єм розчину водою до мітки.

Для вивчення спорідненості пептидів водного екстракту свинячої плаценти до модельних мембран ліпосом (везикул з фосфатидилхоліну) використовували метод флуоресцентних зондів [13, 14]. Як флуо-

ресцентний зонд використовували 1-анілінонафталін-8-сульфонат (1,8-АНС) виробництва «Serva» (ФРН) [13, 14]. Флуоресценцію для зонду 1,8-АНС збуджували на 365 нм, а максимум інтенсивності флуоресценції спостерігали при 475 нм. Зонд вводили в ліпосоми з його водного розчину. Кінцева концентрація зонду в ліпосомах становила 5 мкмоль. Ліпосоми отримували шляхом ультразвукової обробки багаточастотних везикул з фосфатидилхоліну з концентрацією 0,05 % на частоті 22 кГц впродовж 10-15 хвилин при 40 °С в 0,1 М трис-буфері з рН 7,2 за відомою методикою [14]. Спектри флуоресценції реєстрували на спектрофлуориметрі SIGNE-4M.

Відомо, що негативно заряджений зонд 1,8-АНС здатен розчинятися у воді і в ліпофільній фазі (мембрани клітин), однак інтенсивність флуоресценції зонду різко зростає при його переході в ліпофільне оточення мембрани, і навпаки, у воді відбувається гасіння флуоресценції зонду молекулами води [14]. Ця обставина використовується для визначення спорідненості різних лікарських речовин (ЛР) до мембран модельних та інтактних клітин з витіснення зонду з ліпідів мембран у воду молекулами ЛР і відповідного гасіння молекулами води інтенсивності флуоресценції [14].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На рис. 1 представлена калібрувальна хроматограма для речовини пептидної природи фенілаланіну, що дозволяє відкалібрувати колонку за часом утримування на колонці речовин різної молекулярної маси. На рис. 2 показано УФ-спектр у максимумі піку фенілаланіну, який має помітне поглинання у місці 260 нм, що свідчить про пептидну природу фенілаланіну.

На рис. 3 і 4 представлені хроматограми розчину інсуліну і бичачого сироваткового альбуміну (БСА).

Аналіз водорозчинного екстракту тканини свинячої плаценти. На рис. 5 представлена хроматограма ВЕСП при 254 нм.

На осі ординат відкладена величина оптичної щільності розчину при даній довжині хвилі, а по осі абсцис – час виходу рухомої фази у хвилинах.

Для ідентифікації кожної фракції, представленої на хроматограмі (рис. 5), були вивчені УФ-спектри

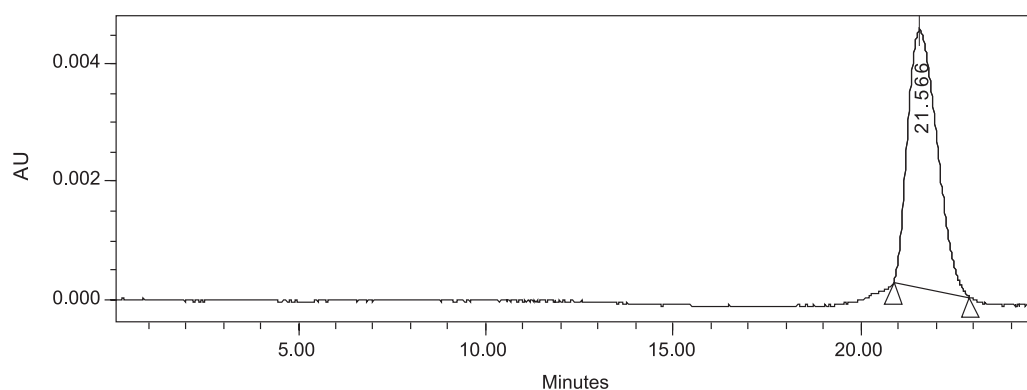


Рис. 1. Хроматограма розчину фенілаланіну, 260 нм

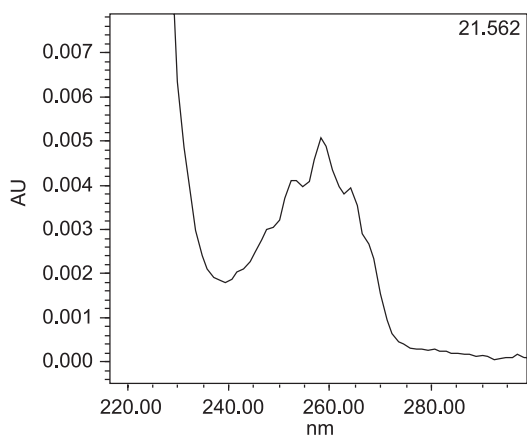


Рис. 2. УФ-спектр у максимумі піку феніланіну

поглинання випробовуваного розчину ВЕСП у місці визначення від 220 нм до 350 нм за показниками часу утримування, відповідних максимуму кожної фракції. Було показано, що всі фракції екстракту мають помітне поглинання у місці 260 нм (максимум), що свідчить про пептидну природу водорозчинних фракцій екстракту тканини свинячої плаценти.

Аналіз хроматограми показав, що вона характеризується суперпозицією декількох піків, які погано

розділяються з максимумом на 21,646 хв. Сама форма цього піку у верхній частині вказує на те, що ця фракція, яка відповідає вільним амінокислотам, неширока, а змішана (у вигляді напливів справа і зліва), зліва з великою за площею фракцією, що відповідає низькомолекулярним пептидам (мол. м. 1000-2000). Праворуч від максимального піку у вигляді напливу присутня досить велика фракція коротких пептидів мол. м. < 500. У результаті на хроматограмі при 254 нм виходить широка огинаюча лінія, яка свідчить про наявність в екстракті великої кількості низькомолекулярних пептидів з різною молекулярною масою.

Основні характеристики фракцій ВЕСП представлені в таблиці. Аналіз часу утримування фракцій з урахуванням калібрувальних хроматограм дозволив орієнтовно визначити діапазон молекулярних мас для кожної фракції і визначити, виходячи з площі піків, питому вагу кожної фракції в % (див. табл.).

З таблиці видно, що основна маса пептидних БАР складається з низькомолекулярних пептидів тієї чи іншої молекулярної маси: фракція 4, можливо, складається з дуже коротких пептидів та вільних амінокислот з мол. м. 100-500 (24,22 %), основні фракції 2 і 3 складаються з пептидів мол. м. 1000-2000 (39,2 %), що мають у структурі близько 10-20 амінокислот

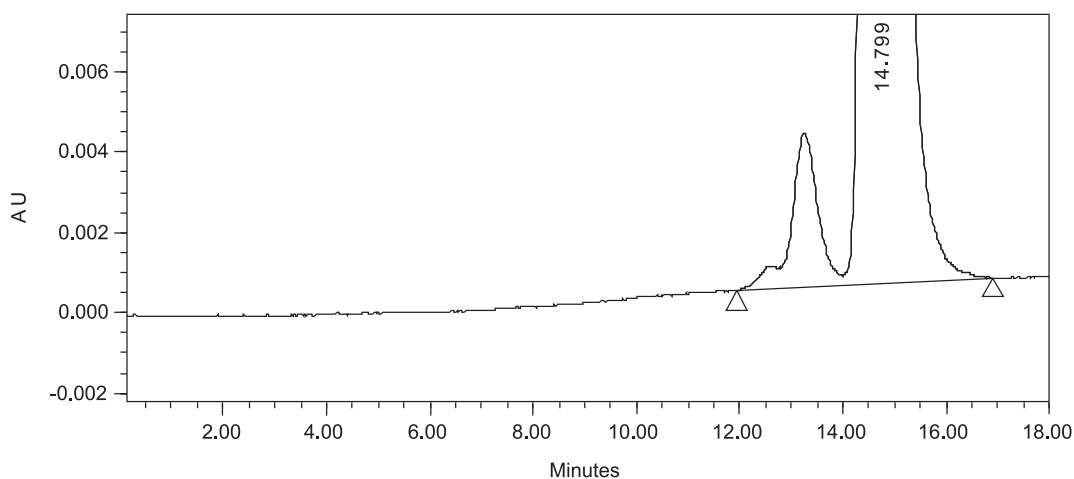


Рис. 3. Хроматограма розчину інсуліну. Основний пік – інсулін (14,8 хв), мінорний пік перед ним – димер інсуліну

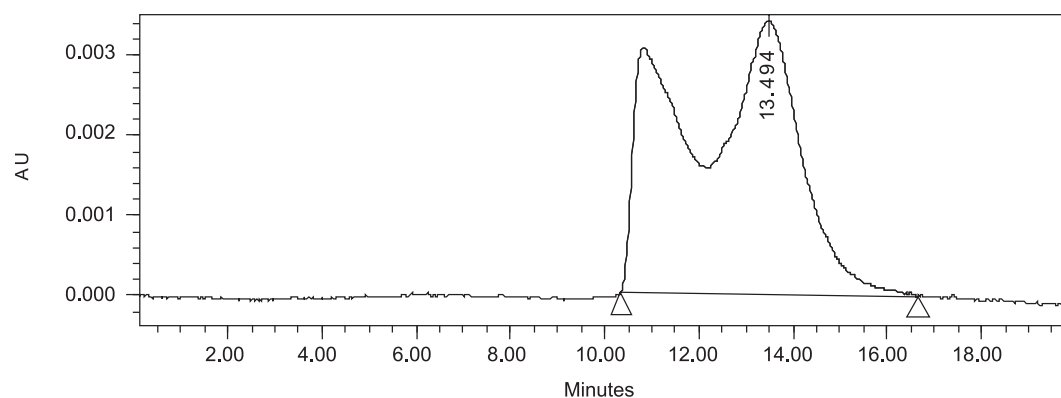


Рис. 4. Хроматограма розчину БСА, 280 нм

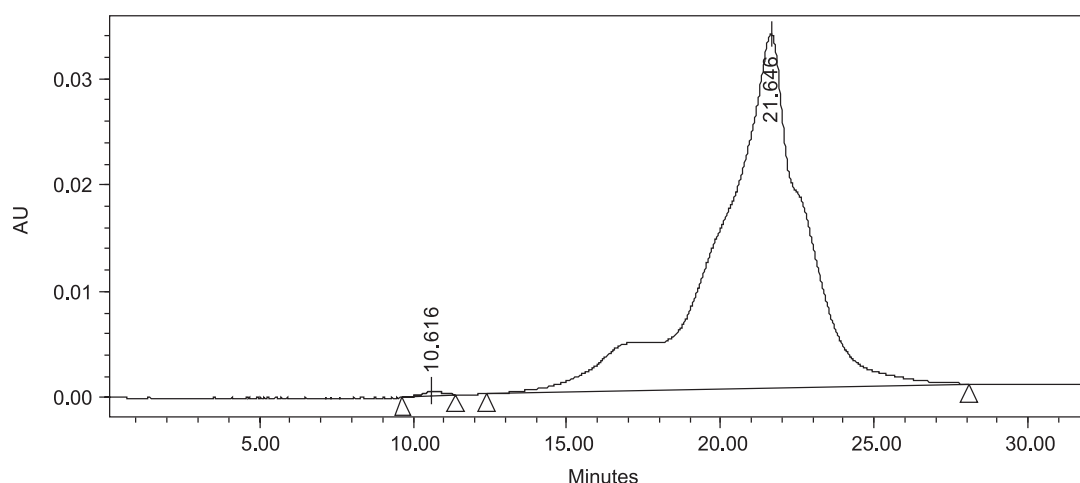


Рис. 5. Хроматограма водного екстракту тканини свинячої плаценти при 254 нм

Таблиця

**ПАРАМЕТРИ ХРОМАТОГРАМИ ПЕПТИДНИХ ФРАКЦІЙ ВОДНОГО ЕКСТРАКТУ
ТКАНИНИ СВИНЯЧОЇ ПЛАЦЕНТИ ПРИ 254 нм**

Номер фракції	Час утримання на колонці, хв	Площа фракції	Питома вага площі піку фракції (%)	Орієнтовна мол. м.	Природа фракцій
1	18,576	2075501	18,29	3000-5000	Низкомолекулярні пептиди
2	20,062	2332345	39,2	1000-2000	Низкомолекулярні пептиди
3	20,479	2116487			
4	21,569	2749469	24,22	100-500	Вільні амінокислоти і короткі пептиди
5	22,879	967350	8,52	< 100	Низкомолекулярні органічні сполуки
6	24,471	608547	5,36		
7	25,571	500830	4,41		

і, як показують наукові дослідження і дані літератури, проявляють найбільшу біологічну активність (біорегулятори, анестетики, протизапальні речовини, протиракові речовини і т. п.). У ВЕСП знаходиться пептидна фракція (час утримання складає 18,576 хв) з мол. м. 3000-5000 (18,3 %), яка, схоже, складається з більш довгих пептидів, але ще не білків (найменший білок-інсулін з мол. м. 5600 і часом утримання на колонці 14,8 хв). Дуже важливим моментом є відсутність у ВЕСП фракції білків (з мол. м. в кілька десятків тисяч), які є алергенами. У біологічних препаратах для косметології уникають застосовувати біологічні витяжки та екстракти, що містять білки. Фракції -7 (низькомолекулярні органічні залишки) також можуть містити велику кількість низькомолекулярних амінокислот та інших органічних речовин. Порівняння даних з вивчення ВЕСП зі схожим дослідженням водних екстрактів тканини свинячої селезінки показує наявність в екстракті селезінки досить вагомої білкової фракції (близько 20 %), що звужує застосування цього екстракту для косметології через алергічні реакції [15].

Таким чином, використання в роботі сучасного методу ВЕГПХ дало можливість отримати нову цінну інформацію про природу і молекулярно-масовий розподіл водної фракції свинячої плаценти.

Засвідчено також (рис. 6), що присутність екстракту тканини свинячої плаценти в ліпосомах призводить до падіння флуоресценції зонду 1,8-АНС внаслідок

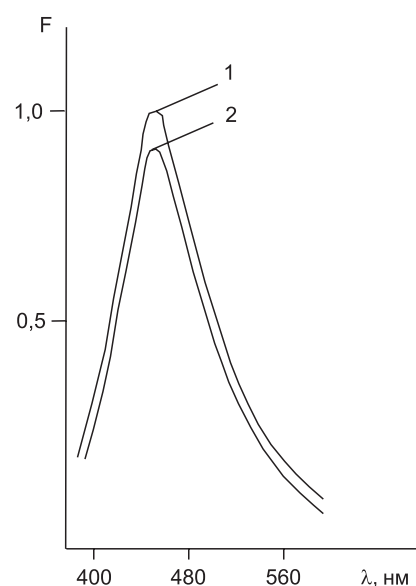


Рис. 6. Спектри флуоресценції зонду 1,8-АНС у ліпосомах: 1 – контроль, 2 – у присутності 0,4 мг/мл пептидів екстракту тканини свинячої плаценти

док зв'язування пептидів екстракту з мембраною ліпосом, витіснення зонду у воду з мембрани і гасіння флуоресценції молекулами води.

Таким чином, пептиди водного екстракту тканини свинячої плаценти ефективно зв'язуються з ліпосомами, що уможливило достатню біологічну активність вивченого екстракту.

ВИСНОВКИ

Методом високоефективної гель-проникаючої хроматографії (ВЕРПХ) вивчено молекулярно-масовий розподіл фракцій водного екстракту свинячої плаценти. Вивчені УФ-спектри поглинання водорозчинних фракцій водного екстракту свинячої плаценти при певному часі утримування фракцій на хроматографічній колонці. Показана пептидна природа водорозчинних фракцій екстракту тканини свинячої плаценти. За допомогою методу флуоресцентних зондів показано, що пептиди водного екстракту тканини свинячої плаценти ефективно зв'язуються з ліпосомами з фосфатидилхоліну (основний фосфоліпід мембран), що уможливило достатню біологічну активність вив-

ченого екстракту. Отриманий водний екстракт відрізняється тим, що містить оптимальну і оригінальну по складу композицію біологічно активних нативних пептидів. Водний екстракт тканини свинячої плаценти містить достатню кількість (24,2 %) коротких пептидів і вільних амінокислот мол. м. 100-500, велику кількість низькомолекулярних пептидів з мол. м. 1000-2000 (39,2 %), які мають за даними наукової інформації високу біологічну активність, і низькомолекулярні пептиди з мол. м. 3000-5000 (18,3 %).

За допомогою методу флуоресцентних зондів показано, що пептиди водного екстракту тканини свинячої плаценти ефективно зв'язуються з ліпосомами з фосфатидилхоліну, що уможливило припустити достатню високу біологічну активність вивченого екстракту при його використанні у вигляді сировини для створення косметологічних гелів (кремів) або мазей.

Результати даних досліджень є підґрунтям для подальших експериментів із водним екстрактом тканини свинячої плаценти у вигляді кремів-гелів для створення на їхній основі косметологічних засобів.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Placenta-derived extracellular vesicles : Their cargo and possible functions / M. Familiar, T. Gronqvist, Z. Masoumi, S. R. Hansson // *Reprod. Fert. Dev.* – 2017. – № 29. – P. 433–447. <https://doi.org/10.1071/rd15143>
2. Extra Purified Exosomes from Human Placenta Contain an Unpredictable Small Number of Different Major Proteins / E. E. Burkova, A. E. Grigor'eva, D. V. Bulgakov et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20 (10). – P. 2434. <https://doi.org/10.3390/ijms20102434>
3. Identification of Major Proteins of a Very Stable High Molecular Mass Multi-Protein Complex of Human Placental Tissue Possessing Nine Different Catalytic Activities / E. Burkova, P. Dmitrenok, D. Bulgakov et al. // *Biochem. Anal. Biochem.* – 2018. – Vol. 07 (01). – P. 82–94. <https://doi.org/10.4172/2161-1009.1000351>
4. Expression of factors involved in the regulation of angiogenesis in the full-term human placenta : Effects of in vitro fertilization / C. Li, Y. Zhang, L. Tang et al. // *Reproductive Biol.* – 2016. – Vol. 16, № 2. – P. 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2016.02.003>
5. The placenta : phenotypic and epigenetic modifications induced by Assisted Reproductive Technologies throughout pregnancy / C. Choux, V. Carmignac, C. Bruno et al. // *Clinical Epigenetics.* – 2015. – Vol. 7, № 1. – P. 87–107. <https://doi.org/10.1186/s13148-015-0120-2>
6. Extremely stable soluble high molecular mass multi-protein complex with DNase activity in human placental tissue / E. E. Burkova, P. S. Dmitrenok, S. E. Sedych et al. // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9 (11). – P. 111234. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111234>
7. Penetration of pegylated gold nanoparticles through rat placental barrier / N. A. Tsyganova, R. M. Khairullin, G. S. Terentyuk et al. // *Bulletin of Experimental Biol. and Medicine (SPINGER).* – 2014. – Vol. 157, № 3. – P. 383–385. <https://doi.org/10.1007/s10517-014-2572-3>
8. Gibson, E. J. Common Sexually Transmitted Infections in Adolescents / E. J. Gibson, D. L. Bell, S. A. Powerful // *Primary Care : Clinics in Office Practice.* – 2014. – Vol. 41 (3). – P. 631–650. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2014.05.011>
9. Pollutant concentrations in placenta / O. Leino, H. Kiviranta, A. K. Karjalainen et al. // *Food and Chemical Toxicol.* – 2013. – Vol. 54. – P. 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.10.058>
10. Autism and mental retardation among offspring born after in vitro fertilization / S. Sandin, K. G. Nygren, A. Iliadou et al. // *J. of the American Med. Association.* – 2013. – Vol. 310, № 1. – P. 75–84. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.7222>
11. Human Maternal Placentophagy : A Survey of Self-Reported Motivations and Experiences Associated with Placenta Consumption / J. Selander, A. Cantor, S. Young, D. Benyshek // *Ecology of Food and Nutrition.* – 2013. – Vol. 52, № 2. – P. 93–115. <https://doi.org/10.1080/03670244.2012.719356>
12. Владимиров, Ю. А. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран / Ю. А. Владимиров, Г. Е. Добрецов. – М. : Наука, 1980. – 320 с.
13. Иванов, Л. В. Биофармацевтические исследования, направленные на оптимизацию состава, свойств и пути введения лекарственных препаратов / Л. В. Иванов, И. Н. Орлова // в сб. «Технология и стандартизация лекарств». – Т. 2. – X., 2000. – С. 558–615.
14. Некоторые биофармацевтические свойства экстракта криоконсервированных фрагментов ксеноселезенки / Л. В. Иванов, В. В. Бызов, Б. П. Сандомирский, С. Е. Гальченко // *Фармаком.* – 2002. – № 2. – С. 78–82.

REFERENCES

1. Familiar, M., Cronqvist, T., Masoumi, Z., & Hansson, S. R. (2017). Placenta-derived extracellular vesicles: their cargo and possible functions. *Reproduction, Fertility and Development*, 29 (3), 433. <https://doi.org/10.1071/rd15143>
2. Burkova, E. E., Grigor'eva, A. E., Bulgakov, D. V., Dmitrenok, P. S., Vlassov, V. V., Ryabchikova, E. I., ... Nevinsky, G. A. (2019). Extra Purified Exosomes from Human Placenta Contain an Unpredictable Small Number of Different Major Proteins. *International Journal of Molecular Sciences*, 20 (10), 2434. <https://doi.org/10.3390/ijms20102434>
3. Burkova, E. E., Dmitrenok, P. S., Bulgakov, D. V., Ermakov, E. A., Buneva, V. N., Soboleva, S. E., & Nevinsky, G. A. (2018). Identification of Major Proteins of a Very Stable High Molecular Mass Multi-Protein Complex of Human Placental Tissue Possessing Nine Different Catalytic Activities. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 07 (01), 82–94. <https://doi.org/10.4172/2161-1009.1000351>
4. Li, C., Zhang, Y., Tang, L., Zhao, H., Gao, C., Gao, L., ... Liu, J. (2016). Expression of factors involved in the regulation of angiogenesis in the full-term human placenta: Effects of in vitro fertilization. *Reproductive Biology*, 16 (2), 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2016.02.003>
5. Choux, C., Carmignac, V., Bruno, C., Sagot, P., Vaiman, D., & Fauque, P. (2015). The placenta: phenotypic and epigenetic modifications induced by Assisted Reproductive Technologies throughout pregnancy. *Clinical Epigenetics*, 7 (1), 87–107. <https://doi.org/10.1186/s13148-015-0120-2>

6. Burkova, E. E., Dmitrenko, P. S., Sedykh, S. E., Buneva, V. N., Soboleva, S. E., & Nevinsky, G. A. (2014). Extremely Stable Soluble High Molecular Mass Multi-Protein Complex with DNase Activity in Human Placental Tissue. *PLoS ONE*, 9 (11), e111234. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111234>
7. Tsyganova, N. A., Khairullin, R. M., Terentyuk, G. S., Khlebtsov, B. N., Bogatyrev, V. A., Dykman, L. A., ... Khlebtsov, N. G. (2014). Penetration of Pegylated Gold Nanoparticles Through Rat Placental Barrier. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 157 (3), 383–385. <https://doi.org/10.1007/s10517-014-2572-3>
8. Gibson, E. J., Bell, D. L., & Powerful, S. A. (2014). Common Sexually Transmitted Infections in Adolescents. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 41 (3), 631–650. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2014.05.011>
9. Leino, O., Kiviranta, H., Karjalainen, A. K., Kronberg-Kippilä, C., Sinkko, H., Larsen, E. H., ... Tuomisto, J. T. (2013). Pollutant concentrations in placenta. *Food and Chemical Toxicology*, 54, 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.10.058>
10. Sandin, S., Nygren, K.-G., Iliadou, A., Hultman, C. M., & Reichenberg, A. (2013). Autism and Mental Retardation Among Offspring Born After In Vitro Fertilization. *JAMA*, 310 (1), 75. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.7222>
11. Selander, J., Cantor, A., Young, S. M., & Benyshek, D. C. (2013). Human Maternal Placentophagy: A Survey of Self-Reported Motivations and Experiences Associated with Placenta Consumption. *Ecology of Food and Nutrition*, 52 (2), 93–115. <https://doi.org/10.1080/03670244.2012.719356>
12. Vladimirov, Iu. A., Dobretsov, G. E. (1980). *Fluorescentnyye zondy v issledovanii biologicheskikh membran*. Moscow: Nauka, 320.
13. Ivanov, L. V., Orlova, I. N. (2000). *Biofarmatsevticheskie issledovaniia, napravlennye na optimizatsiiu sostava, svoistv i puti vvedeniia lekarstvennykh preparatov. «Tekhnologiia i standartizatsiia lekarstv»*, 2, 558–615. Kharkiv.
14. Ivanov, L. V., Byzov, V. V., Sandomirskii, B. P., Galchenko, S. E. (2002). *Farmakom*, 2, 78–82.

Відомості про авторів:

Іванов Л. В., канд. хім. наук, провідний науковий співробітник, Інститут хімії поверхні імені О. О. Чуйка НАН України.

E-mail: ivleon@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4235-2982>

Щербак О. В., канд. сільськогосподарських наук, ст. наук. співр., доцент кафедри біотехнології, декан факультету біотехнології і природокористування, Харківська державна зооветеринарна академія. E-mail: elenasherbak@ukr.net.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4265-3355>

Деримедвідь Л. В., д-р мед. наук, професор кафедри фармакології, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: derimedved67@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5064-6550>

Кравченко В. Г., д-р мед. наук, професор кафедри дерматовенерології, Українська медична стоматологічна академія.

E-mail: vladkrav38@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5538-3991>

Безугла О. П., канд. фармац. наук, ст. наук. співробітник, завідувач лабораторії технології та аналізу лікарських засобів, Державна наукова установа «Науково-технологічний комплекс «Інститут монокристалів» Національної академії наук України» (ДНУ «НТК «ІМК» НАНУ»). E-mail: bezugla.op@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3629-7059>

Information about authors:

Ivanov L., PhD in Chemistry, Chuiko Institute of Surface Chemistry National Academy of Sciences of Ukraine, Leading Researcher.

E-mail: ivleon@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4235-2982>

Shcherbak O., PhD in Agriculture, Kharkiv State Zoo Veterinary Academy, Dean of the Faculty of Biotechnology and Environmental Management,

Associate Professor of the Department of Biotechnology. E-mail: elenasherbak@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4265-3355>

Derymedvid L., MD, Professor of the Department of Pharmacology, National University of Pharmacy. E-mail: derimedved67@gmail.com.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5064-6550>

Kravchenko V., MD, Professor of the Department of Dermatovenereology, Ukrainian Medical Stomatological Academy.

E-mail: vladkrav38@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5538-3991>

Bezugla O., PhD in Pharmacy, Senior Researcher, Head of the Laboratory of Technology and Analysis of Medicines, State Scientific Institution

Institute for Single Crystals of National Acad. Sci. of Ukraine, SSI "Institute for Single Crystals" NAS of Ukraine). E-mail: bezugla.op@gmail.com.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3629-7059>

Сведения об авторах:

Иванов Л. В., канд. хим. наук, ведущий научный сотрудник, Институт химии поверхности имени А. А. Чуйко

Национальной академии наук Украины. E-mail: ivleon@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4235-2982>

Щербак О. В., канд. сельскохозяйственных наук, ст. науч. сотр., доцент кафедры биотехнологии, декан факультета биотехнологии и природопользования, Харьковская государственная зооветеринарная академия. E-mail: elenasherbak@ukr.net.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4265-3355>

Деримедведь Л. В., д-р мед. наук, профессор кафедры фармакологии, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: derimedved67@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5064-6550>

Кравченко В. Г., д-р мед. наук, профессор кафедры дерматовенерологии, Украинская медицинская стоматологическая академия.

E-mail: vladkrav38@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5538-3991>

Безуглая Е. П., канд. фармац. наук, ст. науч. сотрудник, заведующая лабораторией технологии и анализа лекарственных средств,

Государственное научное учреждение «Научно-технологический комплекс «Институт монокристаллов» Национальной академии наук Украины». E-mail: bezugla.op@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3629-7059>

Надійшла до редакції 16.12.2019 р.