

УДК 582.282.23.043

О. Ю. Зінченко, асп.Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра мікробіології і вірусології,
вул. Дворянська, 2, 65026, Одеса, Україна

ВПЛИВ ПОРФІРИНІВ НА РІСТ ГРАМПозИТИВНИХ І ГРАМНЕГАТИВНИХ БАКТЕРІЙ

Досліджено темнову і фотоіндуковану токсичність ряду природних та синтетичних порфіринів по відношенню до клітин *Staphylococcus aureus* і *Escherichia coli*. Показано, що в умовах темного досліду грампозитивні і грамнегативні бактерії мають різну чутливість до вивчених сполук. При дослідженні фотоіндукованої дії значних відмінностей не спостерігали. Найбільш токсичними для обох мікроорганізмів виявилися сполуки, що містять в мезо-положенні похідні хіноліну та піридину.

Ключові слова: порфірини, клітинна стінка, темнова токсичність, фотосенсибілізація.

Останнім часом зростання антибіотикорезистентності мікроорганізмів дуже загострило проблему пошуку принципово нових антибактеріальних засобів. Одним із перспективних наукових напрямків є вивчення взаємодії синтетичних порфіринів з мікробними клітинами. Дослідження ряду авторів показали наявність у деяких сполук даної групи інгібуючої активності по відношенню до мікроорганізмів [1, 2]. Однак відмінності в будові клітинної стінки можуть обумовлювати різну чутливість бактерій до дії порфіринів [3]. У зв'язку з цим метою даної роботи було порівняльне вивчення темного та фотоіндукованого впливу синтетичних порфіринів на ріст грампозитивних і грамнегативних бактерій.

Матеріали і методи

Об'єктами дослідження слугували клітини *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli*. В експериментах використовували добові культури мікроорганізмів, які вирощували на скошеному м'ясо-пептонному агарі (МПА) в пробірках.

Темнову токсичність порфіринів визначали модифікованим мікрометодом серійних розведень [4]. При цьому використовували середовище Гісса з глюкозою без індикатора в кількості 1 мл на пробірку. Посівний матеріал вносили по 50 мкл.

Фотоіндуковану токсичність викликали опроміненням суспензії мікроорганізмів, яка містила 10^7 кл/мл, видимим світлом в присутності порфіринів. Суспензію отримували шляхом змиву добової культури з поверхні скошеного МПА. Густину змиву визначали за стандартом мутності ГКІ № 10

та доводили стерильним фізіологічним розчином до потрібної густини. Інтенсивність опромінення складала 60 Вт/м². Опромінену суспензію розводили стерильним фізіологічним розчином до густини 1000 кл/мл та вносили по 50 мкл в пробірки, що містили по 1мл стерильного середовища Гісса без індикатора.

У дослідах вивчали вплив природних порфіринів – геміну (1) та протопорфірину IX (2), а також синтетичних — мезо-тетра-(6-хінолініл)порфіринато хлориду (3), мезо-тетра-(6-хінолініл)нітропорфіринато хлориду (4), мезо-тетра-(5-хінолініл)порфіринато йодиду (5), мезо-тетра-(4-N-метилпіридил)порфіринато йодиду (6), його комплекс з Zn (7) і Ni (8) та мезо-тетра-(6-хінолініл)порфіринато тозилату (9).

Концентрації порфіринів при визначенні темної активності становили 10, 20 та 40 мкМ, фотоіндукованої – 40 мкМ.

Токсичність досліджуваних сполук в обох випадках оцінювали за наявністю інгібування росту бактерій у рідкому середовищі. Інтенсивність росту визначали спектрофотометрично на СФ «Spekol-10» після 24 годин інкубації при 37°С. Контролем слугували рідкі культури мікроорганізмів, яких не піддавали впливу порфіринів.

Результати і їх обговорення

У попередніх роботах повідомлялося про відсутність темної токсичності у природних порфіринів [5], тому в даній серії дослідів ця властивість не вивчалася.

При вивченні дії синтетичних порфіринів з'ясувалося, що жодна з досліджуваних сполук у використаних концентраціях не інгібує росту *E. coli* в умовах темного дослідів. Проте, у випадку з *S. aureus* спостерігали помітну затримку росту при культивуванні в присутності речовини 9 у концентраціях 20 і 40 мкМ. Незначне інгібування також викликають сполуки 6, 7, 8, 9 у певних концентраціях (табл. 1).

При визначенні фотоіндукованого впливу досліджуваних сполук також виявили відмінності у дії порфіринів на тест-мікроорганізми. Так, опромінення в присутності природних порфіринів дещо стимулювало ріст кишкової палички, але практично не впливало на ріст стафілокока (рис. 1). Слід зазначити, що опромінення тест-об'єктів у відсутність порфіринів давало такий самий ефект.

Що ж до дії синтетичних порфіринів, то найбільш активними по відношенню до *E. coli* виявилися речовини 3, 6, 7, дещо слабшим був вплив сполук 4 та 8. При опроміненні *S. aureus* найбільш виражену токсичність мали порфірини 5 і 6, які майже повністю пригнічували ріст культури. Речовини 3, 4, 7, 9 також помітно гальмували ріст стафілокока. Отже, найбільш активними по відношенню до обох штамів виявилися мезо-тетра-(6-хінолініл)порфіринато хлорид (3), мезо-тетра-(4-N-метилпіридил) порфіринато йодид (6) та його комплекс з Zn (7).

Таблиця 1

Інтенсивність росту *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus* під впливом порфіринів у темнових умовах (E_{540} г 10^{-3})

Сполука	Мікроорганізм					
	<i>Escherichia coli</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>		
	Концентрація сполуки в поживному середовищі, мкМ					
	10	20	40	10	20	40
3	742 ± 33*	817 ± 59*	953 ± 108*	732 ± 49	772 ± 55	766 ± 116
4	700 ± 70	940 ± 71*	1273 ± 108*	721 ± 40	804 ± 75	957 ± 102*
5	652 ± 57	732 ± 46	912 ± 83	743 ± 43	726 ± 43	740 ± 76
6	644 ± 44	622 ± 58	702 ± 74	803 ± 64	677 ± 40*	753 ± 62
7	702 ± 51	730 ± 34	748 ± 51	662 ± 36*	609 ± 37*	740 ± 49
8	710 ± 52	726 ± 41	874 ± 46	575 ± 50*	639 ± 40*	680 ± 52*
9	724 ± 38	729 ± 58	949 ± 118	624 ± 38*	305 ± 92*	335 ± 96*
Контроль	640 ± 32			737 ± 33		

Примітка: * — відмінності достовірні у порівнянні з контролем

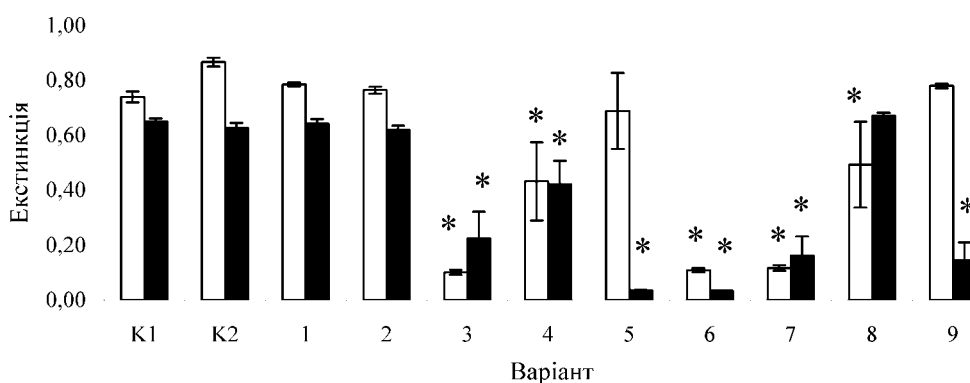


Рис. 1. Інтенсивність росту *E. coli* та *S. aureus* після опромінення в присутності порфіринів

□ — *Escherichia coli*; ■ — *Staphylococcus aureus*; K_1 — контроль без опромінення; K_2 — контроль з опроміненням; * — відмінності достовірні у порівнянні з контролем (K_1).

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що клітини грампозитивних бактерій (приклад — *S. aureus*) є більш чутливими до дії синтетичних порфіринів як при опроміненні, так і без нього. Відносна резистентність клітин *E. coli*, можливо, пов'язана з будовою клітинної стінки. Наявність двох мембран може створювати додатковий бар'єр для проникнення молекул порфіринів. Це і є вірогідною причиною відсутності впливу порфіринів на ріст кишкової палички в умовах темного варіанту дослідження. Проте молекули порфіринів, ймовірно, здатні взаємодіяти з поверхневими структурами клітин і викликати руйнування останніх при опроміненні.

Література

1. Страховская М. Г., Шумарина А. О., Иванова Э. В., Фрайкин Г. Я. Инактивация дрожжей *Candida guilliermondii* видимым светом при индуцированном синтезе эндогенных порфиринов // Микробиология. – 1998. – Т.67, № 3. – С. 360 - 363.
2. Dei D., Possenti M. Photodynamic inactivation of *Candida albicans* cells by using isolated constitutional isomers of zinc (II) phthalocyanine // 1st Intern. Conference on Porphyrins and Phthalocyanine: Proc. (Dijon, France, 25 – 30 June 2000). — Dijon, 2000. — P. 387.
3. Шлегель Г. Общая микробиология. — М.: Мир, 1987. — 566 с.
4. Биргер М. О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. — М.: Медицина, 1972. — С. 175 – 177.
5. Филиппова Т. О., Галкин Б. Н., Зинченко О. Ю. и др. Взаимодействие микроорганизмов с природными и синтетическими порфиринами // Вісник ОНУ. — 2001. — Т. 6, № 4. — С. 317 – 321.

О. Ю. Зинченко

Одесский национальный университет им И. И. Мечникова,
кафедра микробиологии и вирусологии
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ВЛИЯНИЕ ПОРФИРИНОВ НА РОСТ ГРАМПЛОЖИТЕЛЬНЫХ И ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Резюме

Исследованы темновая и фотоиндуцированная токсичность ряда природных и синтетических порфиринов по отношению к клеткам *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Показано, что в условиях темнового опыта грамположительные и грамотрицательные бактерии имеют различную чувствительность к изученным соединениям. При исследовании фотоиндуцированного действия значительных отличий не наблюдали. Наиболее токсичными для обоих микроорганизмов оказались соединения, содержащие в мезо-положении производные хинолина и пиридина.

Ключевые слова: порфирины, клеточная стенка, темновая токсичность, фотосенсибилизация.

O. Yu. Zinchenko

Odessa National Mechnikov University,
Department of Microbiology and Virology,
Dvoryanskaja St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

PORPHYRINS INFLUENCE ON GRAM-NEGATIVE AND GRAM-POSITIVE BACTERIA GROWTH

Summary

The dark and photoinduced toxicity of some natural and synthetic porphyrins for *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* cells was studied. It has been shown that gram-positive and gram-negative bacteria have different sensitivity to dark activity of studied compounds. Studying the photosensitizing effects we have not marked out any abrupt differences. The compounds with a quinoline and pyridine derivatives at the meso-position were the most toxic for both microorganisms.

Key words: porphyrins, cell wall, dark toxicity, photosensibilization.