

УДК 582.282.23.043

Т. О. Філіпова<sup>1</sup>, д-р біол. наук, проф., З. І. Жіліна<sup>2</sup>, д-р. хім. наук, проф., В. О. Іваниця, д-р біол. наук, проф., М. Б. Галкін<sup>1</sup>, студ., І. О. Малярчик, студ., Ю. В. Ішков<sup>2</sup>, пров. наук. співроб., О. Ю. Зінченко<sup>1</sup>, асист.

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,

<sup>1</sup>кафедра мікробіології і вірусології,

<sup>2</sup>проблемна науково-дослідна лабораторія синтезу лікарських засобів,  
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

## АНТИБАКТЕРІАЛЬНА АКТИВНІСТЬ МЕТАЛОКОМПЛЕКСУ МЕЗО-ТЕТРА(4-N-МЕТИЛ- ПІРИДИЛ)ПОРФІРИНУ З ВІСМУТОМ

Комплекс мезо-тетра(4-N-метил-піридил)порфірину з  $\text{Bi}^{3+}$  дозо-залежно пригнічує ріст *Staphylococcus aureus* і *Salmonella enteritidis*. По мірі зростання концентрації металокомплексу у середовищі спостерігається прямопропорційне підвищення його антистафілококової активності. У присутності 80 мкмолей  $\text{Bi}^{3+}$ -ТПП ріст *S. aureus* знижується на 92 %. Для *S. enteritidis* виявлено два інтервали концентрацій, у межах яких спостерігалось зростання ефекту: 0,04 — 4,00 і 40 — 80 мкмолей. В діапазоні концентрацій від 4 до 40 мкмолей інгібуюча дія металокомплексу була постійною і складала ~ 40 %.  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  і вільна основа порфірину не впливали на ріст тест-штамів.

**Ключові слова:** металокомплекс мезо-тетра(4-N-метил-піридил)порфірину з  $\text{Bi}^{3+}$ , антибактеріальна активність, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*.

У клінічній практиці при лікуванні виразкової хвороби та гастритів тривалий час використовується поєднання солей вісмуту з тетрацикліном і метронідазолом [1,2]. Потрійна комбінація цих ліків виявилася особливо ефективною за наявності хелікобактерної інфекції. Причому, як було встановлено нещодавно,  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  також володіє антибактеріальними властивостями. Ці дані стимулювали пошук нових антимікробних засобів серед органічних сполук вісмуту. Встановлено, що його комбінація з ліпофільними тіолами призводить до значного підвищення антибактеріальної активності. Ефективно пригнічують ріст різних бактерій, зокрема *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium difficile* та ін., субсаліцилат та субцитрат вісмуту [3-5]. Причому ці комплекси здатні запобігати утворенню біоплівки стафілококами та паличкою синього гною і знижувати синтез бактеріальних екзополісахаридів.

В останній час нами було показано, що синтетичні мезо-заміщені порфірини та їх металокомплекси з цинком, оловом, германієм і марганцем виявляють значну антимікробну активність [6, 7]. Наведені вище дані стали

підставою для синтезу та дослідження властивостей відповідних комплексів тетрапіролів з вісмутом. Метою даної роботи було вивчення здатності металокомплексу мезо-тетра(4-N-метил-піридил)порфірину з вісмутом ( $\text{Bi}^{3+}$ -ТПП) інгібувати ріст *Staphylococcus aureus* і *Salmonella enteritidis*.

### Матеріали і методи

Досліджені у роботі сполуки синтезовані у ПНДЛ-5 Одеського національного університету за методом [8].

При вивченні впливу досліджуваних речовин використовували середовище Гісса з глюкозою без індикатора Андреде [9]. Культури тест-мікроорганізмів, вирощені на скошеному МПА в пробірках, змивали стерильним фізіологічним розчином. Суспензію розводили до концентрації  $10^3$  клітин/мл і вносили по 50 мкл в пробірки з 1 мл стерильного середовища Гісса.

Культури з порфіринами інкубували в термостаті при температурі  $37^\circ\text{C}$  протягом 24 годин. Інтенсивність росту тест-штамів визначали за оптичною густиною, яку вимірювали на спектрофотометрі "Spekol-10" при довжині хвилі 540 нм. За контроль правили культури мікроорганізмів, вирощені в середовищі Гісса без додавання досліджуваних речовин. Паралельно вивчали вплив на ріст вказаних штамів вільної основи синтетичного порфірину та нітрату вісмуту, які використовували у тих самих концентраціях, що і металокомплекс. Експерименти повторювали 4 рази. Кількість паралелей кожного з варіантів дорівнювала 5.

### Результати та їх обговорення

У роботі було досліджено вплив низки концентрацій  $\text{Bi}^{3+}$ -ТПП у діапазоні від 0,04 до 80 мкмолей на ріст *S. aureus* і *S. enteritidis*. Дані мікроорганізми були обрані як представники грам-позитивних та грам-негативних бактерій, відповідно, а сальмонела, крім того, виявляла інтерес в зв'язку з її резистентністю до цитрату вісмуту (останній входить до складу селективного для сальмонел живильного середовища).

Одержані результати (рис. 1) свідчать про те, що вісмутовий комплекс дозо-залежно пригнічує ріст обох мікроорганізмів. Найменша концентрація інгібувала ріст *S. aureus* і *S. enteritidis* на 23 і 18 %, відповідно. По мірі зростання вмісту металокомплексу у середовищі спостерігалось практично прямопропорційне підвищення інгібуючої дії щодо *S. aureus*. При концентрації 80 мкмолей ріст стафілококу пригнічувався на 92 %. Для *S. enteritidis* виявлено два інтервали концентрацій, у межах яких спостерігалось зростання ефекту: 0,04–4,00 і 40–80 мкмолей. В діапазоні концентрацій від 4 до 40 мкмолей інгібуюча дія металокомплексу була постійною і складала ~ 40 %. Максимальне пригнічення росту сальмонели становило 70 % і спостерігалось в присутності 80 мкмолей досліджуваної сполуки. Аналіз особливостей залежності концентрація-ефект в випадку *S. enteritidis*, показує, що в зоні малих концентрацій подвоєння ефекту спостерігається за

умов 100-кратного підвищення вмісту  $\text{Bi}^{3+}$ -ТПП у середовищі. Теж саме у зоні більших концентрацій потребує лише двократного зростання кількості діючої речовини. На наш погляд ці відмінності можуть бути обумовлені різними механізмами дії та/або надходження комплексу всередину клітин. Зокрема, в присутності великих концентрацій  $\text{Bi}^{3+}$ -ТПП може підвищуватися проникненість зовнішньої мембрани сальмонел.

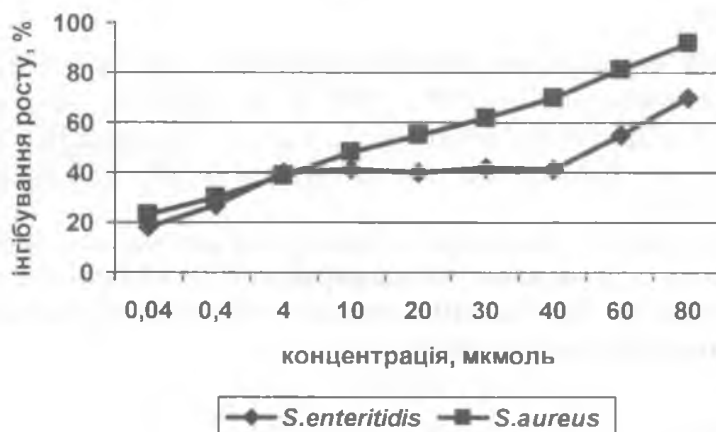


Рис. 1. Характер інгібуючої дії  $\text{Bi}^{3+}$ -ТПП на ріст *S. aureus* і *S. enteritidis*.

Співставлення дії  $\text{Bi}^{3+}$ -ТПП з ефектами вихідних компонентів для синтезу цього комплексу показало, що нітрат вісмуту був неактивним при усіх досліджених концентраціях, а вільна основа мезо-тетра(4-N-метил-піридил)порфірину лише у максимальній концентрації дещо (на 10-12 %) знижувала ріст тест-штамів (рис. 2).

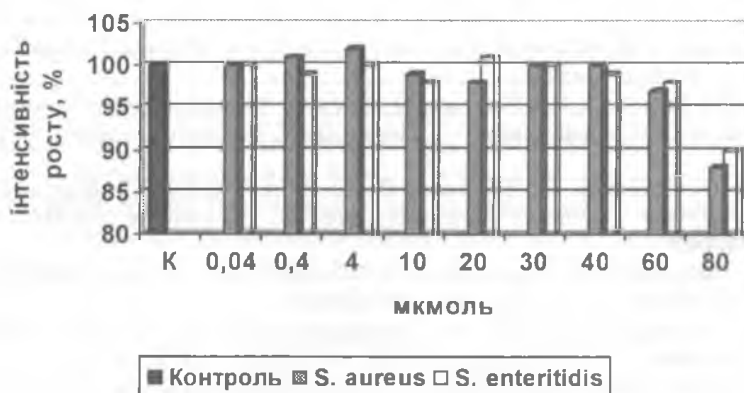


Рис. 2. Вплив різних концентрацій вільної основи ТПП на ріст тест-штамів.

Таким чином, одержані результати дозволяють зробити висновок, що саме металокомплекс вісмуту з синтетичним порфірином здатен виявляти антимікробну дію. Слід також відмітити, що  $\text{Bi}^{3+}$ -ТПП виявився більш активним в порівнянні з іншими комплексними сполуками вісмуту, оскільки за даними літератури [10] цитрат  $\text{Bi}$  пригнічує ріст *H. pylori* у концент-

рації 250 мкмоль, а сальмонели ростуть на середовищі, яке містить 3750 мкмоль цієї речовини. Враховуючи вищенаведене, в подальших експериментах буде вивчений вплив  $\text{Bi}^{3+}$ -ТПП на ріст інших представників умовно-патогенних бактерій та його здібність знижувати патогенність збудників, яка виявлена у інших вісмут-органічних сполук [11].

## Висновки

1.  $\text{Bi}^{3+}$ -ТПП дозо-залежно пригнічує ріст *S. aureus* і *S. enteritidis*.
2. Зростання концентрації  $\text{Bi}^{3+}$ -ТПП в середовищі призводить до прямопропорційного підвищення інгібуючої дії щодо *S. aureus*. При концентрації 0,04 мкмоль ріст стафілококу пригнічувався на 23 %, а в присутності 80 мкмоль — на 92 %.
3. Для *S. enteritidis* виявлено підвищення інгібуючого впливу вісмутового комплексу у діапазонах концентрацій 0,04–4,00 і 40–80 мкмоль. При концентраціях від 4 до 40 мкмоль інгібуюча дія металокомплексу була постійною і складала ~ 40 %.

## Література

1. Current European Concept in the management of *Helicobacter pylori* infection: The Maastricht Consensus Report // Gut. — 1997. — V. 41, № 1. — P. 8-13.
2. Шептулин А. А. Базисная терапия язвенной болезни // Рос. мед. журн. — 1998. — № 7. — С. 412-417.
3. Chang T. W., Dong M. Y., Gorbach S. L. Effect of bismuth subsalicylate on *Clostridium difficile* colitis in hamsters // Rev. Infect. Dis. — 1990. — V. 12, Suppl. 1. — P. 57-58.
4. Huang C. — T., Stewart P. S. Reduction of polysaccharide production in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by bismuth dimercaprol (BisBAL) treatment // J. Antimicrob. Chemother. — 1999. — V. 44, № 3. — P. 601-605.
5. Domenico P., Baldassarri L., Schoch P. E. et al. Activities of Bismuth Thiols against Staphylococci and Staphylococcal Biofilms // Antimicrob. Agents Chemother. — 2001. — V. 45, № 8. — P. 1417-1421.
6. Філіпова Т. О., Галкін Б. М., Зінченко О. Ю. та ін. Взаємодія мікроорганізмів з природними і синтетичними порфіринами // Вісник ОНУ. Біологія. — 2001. — Т. 6, вип. 2. — С. 157-160.
7. Philippova T. O., Galkin B. N., Zinchenko O. Yu. et al. The antimicrobial properties of new synthetic porphyrins. Journal of Porphyrins and Phthalocyanines // 2003. — V. 12, № 11-12. — P. 737-742.
8. Жіліна З. І., Бардай Л. П., Мельник В. І. Водорозчинні азакраун-порфірини // Вісник ОНУ. Хімія. — 2001. — Т. 6, вип. 5. — С. 40-43.
9. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М. О. Биргера. — М.: Медицина, 1972. — С. 175 — 177.
10. Millari M. R., Pike J. Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents against Slowly Growing *Helicobacter pylori* // Antimicrob. Agents Chemother. — 1992. — V. 36, № 1. — P. 185-187.
11. Wu C. L., Domenico P., Hassett D. J. et al. Subinhibitory Bismuth-Thiols Reduce Virulence of *Pseudomonas aeruginosa* // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. — 2002. — V. 26. — P. 731-738.

Т. О. Филиппова, З. И. Жилина, В. А. Иваница, Н. Б. Галкин,  
И. О. Малярчик, Ю. В. Ишков, О. Ю. Зинченко  
Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,  
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

### АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСА МЕЗО-ТЕТРА(4-N-МЕТИЛ-ПИРИДИЛ)ПОРФИРИНА С ВИСМУТОМ

#### Резюме

Комплекс мезо-тетра(4-N-метил-пиридил)порфирина с  $\text{Bi}^{3+}$  дозо-зависимо угнетает рост *Staphylococcus aureus* и *Salmonella enteritidis*. По мере увеличения концентрации металлокомплекса в среде наблюдается прямопропорциональное повышение его антистафилококковой активности. В присутствии 80 мкмоль  $\text{Bi}^{3+}$ -ТПП рост *S. aureus* снижается на 92 %. Для *S. enteritidis* выявлено два интервала концентраций, в диапазоне которых наблюдалось возрастание эффекта: 0,04–4,00 и 40–80 мкмоль. В интервале концентраций от 4 до 40 мкмоль ингибирующее действие металлокомплекса было постоянным и составляло ~ 40 %.  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  и свободное основание порфирина не влияли на рост тест-штаммов.

**Ключевые слова:** металлокомплекс мезо-тетра(4-N-метил-пиридил)порфирина с  $\text{Bi}^{3+}$ , антибактериальная активность, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*.

T. O. Philippova, Z. I. Zhilina, V. O. Ivanitsa, N. B. Galkin,  
I. O. Malyarchik, Yu. V. Ishkov, O. Yu. Zinchenko  
Odessa Mechnikov National University  
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

### ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MESO-TETRA(4-N-METHYL- PYRIDYL)PORPHYRIN COMPLEX WITH $\text{Bi}^{3+}$

#### Summary

Meso-tetra(4-N-methyl-pyridyl)porphyrin complex with  $\text{Bi}^{3+}$  can inhibit growth of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enteritidis* depending on a dose. With increase in concentration of this complex in the environment we can see increasing of its antistaphylococcal activity by a line proportion. In the presence of 80 mmol of  $\text{Bi}^{3+}$ -TPP growth of *S. aureus* decrease by 92%. We revealed two intervals of concentrations for *S. enteritidis* within the range of which we could observe increasing antimicrobial effect — 0,04-4,00 and 40-80 mmol. In the interval of concentrations in 4 to 40 mmol, inhibitory activity of the complex was permanent and made 40%.  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  and free base of the porphyrin did not influence the growth of test-strains.

**Key words:** meso-tetra(4-N-methyl-pyridyl)porphyrin complex with  $\text{Bi}^{3+}$ , antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*.