

## ВИКОРИСТАННЯ МІКРОБНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН У БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНІ

Т. П. ПИРОГ, А. Д. КОНОН, А. Б. СКОЧКО

Національний університет харчових технологій, Київ

E-mail: tapirog@usuft.kiev.ua

Наведено дані літератури та результати власних експериментальних досліджень практичного використання мікробних поверхнево-активних речовин (ПАР) у біології та медицині. Розглянуто і проаналізовано антимікробні (протівірусні, антибактерійні, антифунгальні) властивості ПАР мікробного походження, їхню антиадгезивну активність, перспективи використання цих продуктів мікробного синтезу в терапевтичних цілях (як тромболітичні та протипухлинні агенти, складові ліпосом для цільового доставлення ліків, для посилення антимікробної дії ефірних олій, застосування в генній терапії тощо).

Обговорюються перспективи використання мікробних ПАР у молекулярно-біологічних, генетичних, цитологічних та імунологічних дослідженнях.

**Ключові слова:** мікробні поверхнево-активні речовини, антимікробна дія, антиадгезивні властивості, генна терапія, медицина, біологія.

Поверхнево-активні речовини широко використовують у різних галузях промисловості, у зв'язку з чим попит на синтетичні ПАР постійно зростає. Разом з тим темпи розвитку біотехнології на сучасному етапі та підвищення уваги до збереження довкілля зумовили великий інтерес дослідників до мікробних ПАР як альтернативи хімічним аналогам [1].

ПАР мікробного походження мають багато переваг перед синтетичними сполуками: біодеградабельність (у разі потрапляння в екосистему легко розкладаються на простіші сполуки, тимчасом як використання хімічних ПАР завдає великої шкоди довкіллю); синтезуються мікроорганізмами з дешевої сировини (наприклад, відходів різних виробництв); стабільність властивостей у широкому діапазоні рН і температури; нетоксичність (на відміну від синтетичних ПАР та інших антимікробних і дезінфікувальних препаратів, що діють на плазматичну мембрану клітин-мішеней [1]); складна хімічна будова, що важко синтезується штучно.

Завдяки амфифільній будові молекул мікробним ПАР притаманні різноманітні властивості, що зумовило використання їх у нафто- та гірничодобувній, хімічній, харчовій промисловості, сільському господарстві, а також у природоохоронних технологіях для очищення довкілля (табл. 1) [2].

У біології мікробні ПАР можуть бути використані як стимулятори росту мікроорганізмів (табл. 1) та під час селекції штамів-продуцентів замість вузькоспецифічних синтетичних ПАР (додецилсульфонат натрію, оксіетиловані алкілфеноли типу Тритон X-100 та цетилтриметиламонійбромід).

Іншим перспективним напрямом практичного застосування мікробних ПАР є медицина. На сьогодні цей напрям лише починає розвиватися, але вже є певні позитивні результати, що дають підстави розглядати ПАР мікробного походження як альтернативу синтетичним лікарським засобам. Завдяки антимікробним, антивірусним і антиадгезивним властивостям мікробні ПАР можна використовувати як безпечні та ефективні терапевтичні засоби.

Такі властивості мікробних ПАР, як стимуляція утворення іонних каналів та підвищення електричної провідності в ліпідних мембранах, вплив на АТФазу, посилення імунної відповіді (табл. 2), уможливають використання їх у біології для вивчення будови і функції біліпідних мембран, адаптивних механізмів та енергетичних процесів у клітинах, імунологічних реакцій і в лабораторній практиці при створенні гібридом.

Крім того, ПАР мікробного походження можуть бути альтернативою таким препара-

Таблиця 1. Галузі практичного використання мікробних поверхнево-активних речовин

№ п/п	Властивості ПАР	Сфера застосування
1	Диспергування й утворення емульсій	Виготовлення косметичних засобів, фарб, нафтодобування
2	Солюбілізація та утворення мікроемульсій	Виробництво засобів особистої гігієни та фармацевтичних препаратів
3	Змочування і проникність	Виробництво фармацевтичних препаратів, фарб, текстильна промисловість
4	Мийні властивості	Сільськогосподарська продукція, продукти високих технологій
5	Піноутворення	Виробництво засобів особистої гігієни і косметики
6	Згущування	Виробництво фарб
7	Сорбція металів	Гірничодобувна промисловість
8	Формування везикул	Косметика, системне доставлення ліків
9	Стимуляція росту мікроорганізмів	Очищення стічних вод, ферментація
10	Деемульгування	Перероблення відходів
11	Зниження в'язкості	Транспортування трубопроводами
12	Диспергування	Утворення вугільно-нафтових і вугільно-водних сумішей

там, як Тритон Х-100 у генетичних дослідженнях (екстракція ДНК) та додецилсульфат натрію (електрофорез).

Мікробні ПАР, що їх застосовують у біології та в медичних цілях, мають різну хімічну будову, різні властивості та синтезуються багатьма мікроорганізмами (табл. 2).

### Антимікробні та противірусні властивості мікробних ПАР

Однією з основних причин недостатньої ефективності лікарських засобів є резистентність до них мікроорганізмів–збудників інфекційних захворювань. Виникненню та поширенню стійкості до антимікробних препаратів сприяє нераціональне застосування антибіотиків у клінічній практиці, а саме: призначення їх у разі вірусних інфекцій, неадекватність доз і термінів застосування, призначення препаратів без визначення чутливості збудників, вільний продаж антибіотичних засобів в аптечній мережі, самолікування тощо. Поширення резистентних штамів мікроорганізмів потребує розроблення невідкладних заходів щодо запобігання цьому процесу. Одним із підходів до вирішення цієї проблеми є пошук нових речовин з антимікробною дією та розроблення на їх основі ефективних препаратів. Такими потенційними речовинами для практичного використання у медицині можуть бути мікробні ПАР.

Мікроорганізми–продуценти ПАР набули здатності синтезувати антимікробні сполуки у процесі еволюції. Наприклад, рамноліпіди, манозилеритритолліпіди (МЕЛ) і сурфактини завдяки антибіотичній актив-

ності забезпечують перевагу продуцентам у процесі колонізації нового середовища і конкуренції за субстрат з іншими видами [9, 31]. З біологічного погляду дослідження мікробних ПАР дозволяє детальніше зрозуміти таке явище у природі, як активний антагонізм. Яскравим прикладом є високий антимікробний потенціал нещодавно виділеного ліпопептиду *Brevibacillus brevis* НОВ1 проти штаму *Bacillus licheniformis*, ізолюваного разом із продуцентом ПАР з відпрацьованої води нафтового поля [18].

### Методи визначення антимікробної активності ПАР

Як свідчать дані літератури, найчастіше застосовуваним методом визначення антимікробної дії ПАР є метод дифузії в агар [3, 13, 17, 18], який ґрунтується на вимірюванні зон затримки росту тест-культур і дає змогу визначити мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК), тобто мінімальну концентрацію антимікробного агента, якому притаманна здатність до затримки росту мікроорганізмів. Досить важливим є метод, за допомогою якого можна визначити антагоністичну активність продуцентів ПАР [8, 16]. Для цього на щільне живильне середовище у двох місцях наносять культуральну рідину продуцента, а в двох інших — частини агару зі спорами грибів, після чого культури інкубують разом кілька днів за оптимальної температури й оцінюють зони затримки росту мікроміцетів.

Іншим способом визначення антимікробної дії ПАР є метод суспензійних культур [17, 32], який ґрунтується на внесенні препаратів поверхнево-активних речовин

Таблиця 2. Деякі поверхнево-активні речовини, використовувані у медицині

Мікроорганізм-продуцент	Тип ПАР	Практичне застосування
1	2	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Рамноліпіди (гліколіпід)	Антимікробна активність проти <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , антифунгальна, антиадгезивна активність проти деяких бактерій та дріжджів, виділених із зубних протезів [3–6]
<i>Pseudomonas libanensis</i> M 9-3	Віскозин (ліпопептид)	Протипухлинна дія [7]
<i>Bacillus subtilis</i> 20B	Ліпопептид	Антифунгальна активність проти фітопатогенних грибів [8]
<i>Bacillus subtilis</i>	Сурфактин (ліпопептид)	Антибактеріальна й антифунгальна дія, гемолізис та утворення іонних каналів у ліпідних мембранах, протипухлинна дія щодо ракових клітин Ерліха, широка противірусна активність [9, 10]
	Ліпопептид N1	Антибактеріальна дія на спорові мікроорганізми, стрептококи, стафілококи, збудників туберкульозу [11]
	Ітурин (ліпопептид)	Вплив на морфологію і мембранні структури дріжджових клітин, антимікробна та антифунгальна дія, підвищення електричної провідності ліпідів мембран, нетоксичний і непірогенний імунологічний ад'ювант [12, 13]
<i>Bacillus pumilus</i>	Пумілацидин (аналог сурфактину, ліпопептид)	Противірусна активність щодо простого вірусу герпесу 1 (HSV-1), інгібування H <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> - АТФази та профілактика шлункових виразок <i>in vivo</i> [14]
<i>Bacillus licheniformis</i> BAS50	Ліхенізин (ліпопептид)	Бактерицидна дія [15]
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> LP03	Бамілоцин А (ліпопептид)	Антифунгальна активність проти фітопатогенних грибів [16]
<i>Bacillus circulans</i>	Ліпопептид	Антимікробна дія на широкий спектр мікроорганізмів, у тому числі резистентних <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA), <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> [17]
<i>Brevibacillus brevis</i> HOB1	Ліпопептид	Антимікробна дія [18]
<i>Candida antartica</i> T34	Манозилеритритолліпіди (гліколіпід)	Антимікробні, імунологічні та нейрологічні властивості, індукування диференціації клітин людини HL60, індукування нейродиференціації клітин PC12 [19, 20]
<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	Софороліпід (гліколіпід)	Антибактеріальна дія, у т. ч. на <i>Propionibacterium acne</i> , перспективний нетоксичний компонент косметичних засобів, антифунгальна дія на фітопатогенні гриби [21]
<i>Pseudozyma fusiformata</i>	Гліколіпід	Антифунгальна дія на широкий спектр дріжджів [22, 23]
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	Трегалозоліпіди (гліколіпід)	Противірусна активність щодо вірусу простого герпесу HSV та вірусу грипу [24, 25]
<i>Pseudozyma flocculosa</i>	Флокулозин (гліколіпід)	Антифунгальна активність, посилення антимікробної і цитотоксичної дії антибіотика амфотерицину В на дріжджі та ракові клітини [26]
<i>Pseudozyma siamensis</i> SBS 9960	Манозилеритритолліпід (гліколіпід)	Здатність до формування ліотропних рідкокристалічних рядів з утворенням везикул (ліпосом) для використання в генній терапії [27]
<i>Streptococcus thermophilus</i> A	Гліколіпід	Антиадгезивна дія проти деяких бактерій та дріжджів, виділених із зубних протезів [28, 29]
<i>Streptococcus mitis</i>	–	Антиадгезивна дія проти <i>Streptococcus mutans</i> [9]

1	2	3
Представники роду <i>Lactobacillus</i>	Сурфактин (ліпопептид)	Антиадгезивна дія проти деяких патогенних мікроорганізмів, у тому числі ентеробактерій [30]
<i>Lactococcus lactis</i> 53	–	Антиадгезивна дія проти деяких бактерій та дріжджів, виділених із зубних протезів [9]

Примітка: «–» — дані відсутні.

у суспензії тест-культур із подальшим вимірюванням показників росту мікроорганізмів (оптична густина, ваговий метод) та оцінюванням ступеня його гальмування.

Відомо, що механізм антимікробної дії ПАР полягає в порушенні цілісності цитоплазматичної мембрани тест-культур і втраті клітиною життєздатності. На цій властивості й ґрунтується третя група методів визначення антимікробної активності ПАР. Так, автори роботи [21] вимірювали активність малатдегідрогенази (ензиму, який є інтермедіатом циклу трикарбонових кислот), що виділявся клітинами тест-культур назовні після дії поверхнево-активних речовин. Інші дослідники [22, 23] за схожим принципом оцінювали антимікробну дію ПАР, вимірюючи лише кількість виділеної АТФ.

### Антибактеріальна активність мікробних ПАР

На сьогодні найбільш дослідженими ПАР, яким притаманна антимікробна дія, є ліпопептиди. Це й зрозуміло, оскільки вони по суті є поліпептидними антибіотиками. Серед них привертають увагу сурфактин (продуцент *B. subtilis*) [9] і ліхенізин (*B. licheniformis*) [15]. Є також дані про антибактеріальну активність ще однієї поверхнево-активної речовини N1, продуцентом якої є *B. subtilis* (табл. 3) [11]. ПАР N1 виявились ефективними проти грам-позитивних (проте не грамнегативних) бактерій. Таке явище можна пояснити тим, що грамнегативні бактерії мають зовнішню мембрану, непроникну для досліджуваних ПАР.

Таблиця 3. Антибактеріальна активність поверхнево-активної речовини N1

Забарвлення тест-культур за Грамом	Тест-культури	Антибактеріальна активність
Грам-позитивні	<i>Bacillus coagulans</i>	+++
	<i>B. subtilis</i> MTCC 121	++
	<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> MTCC 440	+++
	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	++
	<i>Staphylococcus aureus</i> MTCC 87	++
	<i>S. aureus</i> MTCC 96	++
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> MTCC435	++
	<i>Streptococcus mutans</i> MTCC 497	+++
Грамнегативні	<i>Escherichia coli</i> MTCC 406	–
	<i>E. coli</i> MTCC 476	–
	<i>E. coli</i> MTCC 443	–
	<i>E. coli</i> MTCC 452	–
	<i>E. coli</i> MTCC 295	–
	<i>E. coli</i> MTCC 73	–
	<i>Enterococcus faecalis</i> MTCC 439	–
	<i>Pseudomonas acidovorans</i> MTCC 104	–
	<i>P. aeruginosa</i> MTCC 424	–
	<i>Pseudomonas cepacia</i> MTCC 438	–
	<i>Salmonella virchow</i> MTCC 1163	–
	<i>Salmonella</i> MTCC 98	–
<i>Serratia marcescens</i> MTCC 97	–	

Примітка: «+++» — зона затримки росту >11 мм; «++» — зона затримки росту 9–11 мм; «–» — зони затримки росту не виявлено.

Ліпопептид *B. brevis* НОВ1 виявляв антимікробну дію як щодо грамполозитивних (*B. licheniformis*), так і грамнегативних (*E. coli*) бактерій, однак був неефективним проти *S. aureus* [18]. Загалом пошук препаратів проти золотистого стафілокока є актуальним через утворення резистентних форм, на які не діють антибіотики. Одним з таких препаратів може бути ліпопептид *B. circulans*, який у концентрації 500 мкг/мл повністю знищував клітини *S. aureus* [17]. Також цей ліпопептид виявляв ефективність проти таких стійких мікроорганізмів, як *Klebsiella* sp. і *E. coli*. Крім того, він характеризувався широким спектром антибактеріальної дії як на грамполозитивні, так і на грамнегативні мікроорганізми. Не поступається йому за активністю й рамноліпід, продукований *P. aeruginosa* AT10 [3] (табл. 4). Порівняння антимікробної дії рамноліпиду і ліпопептиду показало, що останній ефективніший проти грамнегативних бактерій окрім *E. coli* і *Serratia marcescens*. За дії на грамполозитивні бактерії значної переваги ліпопептиду порівняно з рамноліпідом виявлено не було.

Представники роду *Pseudomonas* можуть продукувати не тільки рамноліпиди (гліколіпиди), а й ліпопептиди. Так, *P. putida* PCL1445 синтезує речовину ліпопептидної природи (путисолвін), що пригнічує утворення біоплівки і призводить до деградації вже існуючих біоплівок як власних, так й інших псевдомонад, у тому числі й умовно-патогенних для людини [33].

*Candida antarctica* T34 синтезує суміш чотирьох видів МЕЛ (гліколіпиди), проте у ній переважають МЕЛ-А і МЕЛ-В, які демонструють сильну дію проти грамполозитивних бактерій [19, 20].

Також цікавим агентом є софороліпід *Candida bombicola* ATCC 22214, який діє на *B. subtilis*, *Staphylococcus xylosum*, *Streptococcus mutans*. Перевагою софороліпидів є нетоксичність, висока розчинність у воді, економічно вигідна технологія виробництва та високий вихід цільового продукту — до 300 г/л [21].

Окремо можна розглянути групу продуцентів ПАР, які належать до молочнокислих бактерій. Їхньою особливістю є те, що структуру деяких ПАР не встановлено, однак окрім здатності до синтезу поверхнево-активних речовин їм притаманна й пробіотична дія. Наприклад ПАР, синтезовані молочнокислими бактеріями *Lactococcus lactis* 53 і *Streptococcus thermophilus* A [29] мають високу антимікробну активність у низьких концентраціях (25–100 мг/мл) проти *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus salivarius*, *S. aureus*, *Rothia dentocariosa* й використовуються як пробіотики для лікування та профілактики сечостатевої і кишкових захворювань (захищають сечостатеву систему та кишковий тракт від патогенних мікроорганізмів, забезпечуючи альтернативне лікування) [6]. У досліджах на щурах, інфікованих хірургічним шляхом, було встановлено, що ПАР *Lactobacillus fermentum* RC-14 знищують збудника — *S. aureus* [34]. Нещодавно було показано, що як самі бактерії *Lactobacillus plantarum* 299v і *Lactobacillus rhamnosus* GG, так і синтезовані ними ПАР перешкоджають прикріпленню *E. coli* до епітеліальних клітин кишкового тракту [35].

Із забруднених нафтою зразків ґрунту і води нами було виділено нафтоокиснювальні бактерії, ідентифіковані як *Acinetobacter calcoaceticus* K-4 і *Rhodococcus erythropolis*

Таблиця 4. Порівняння антимікробної активності ліпопептиду *B. circulans* і рамноліпиду *P. aeruginosa* AT10

Тест-культура	Мінімальна інгібуюча концентрація (мкг/мл)	
	Ліпопептид	Рамноліпід
Грамнегативні бактерії		
<i>Alcaligenes faecalis</i>	10	32
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	100	128
<i>E. coli</i>	40	32
Представники роду <i>Enterobacter</i>	20	>256
<i>Serratia marcescens</i>	30	16
<i>Proteus miravillis</i>	20	>256
Грамполозитивні бактерії		
Представники роду <i>Bacillus</i>	30	64
<i>Micrococcus</i>	200	32
Представники роду <i>Mycobacterium</i>	50	16

ЕК-1 [36], і встановлено здатність цих штамів синтезувати метаболіти з поверхнево-активними та емульгувальними властивостями під час росту на різних гідрофобних і гідрофільних субстратах [37, 38]. За хімічною природою ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 є комплексом гліко-, фосфо- і нейтральних ліпідів [37], а ПАР *A. calcoaceticus* К-4 — комплексом гліко-, аміно- та нейтральних ліпідів [38]. Гліколіпіди обох штамів представлені трегалозоміколами. Встановлено можливість інтенсифікації синтезу ПАР оптимізацією умов культивування продуцентів як у колбах, так і в лабораторному ферментаторі [37–40], внесенням у середовище з етанолом чи гексадеканом  $C_4$ -дикарбонових кислот (попередників глюконогенезу) і цитрату (регулятора синтезу ліпідів) [41–42], модифікацією середовища на основі дослідження особливостей метаболізму гексадекану й етанолу у штамів ЕК-1 і К-4 (зниження в середовищі культивування вмісту інгібіторів і підвищення активаторів ключових ензимів біосинтезу ПАР) [43, 44].

Наступні дослідження показали, що ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 і *A. calcoaceticus* К-4 виявляють антимікробну дію щодо ряду бактеріальних тест-культур. На першому етапі аналізували вплив ПАР на добові культури *B. subtilis* і *E. coli*. Такі тест-культури було обрано тому, що *B. subtilis* БТ-2 є грампозитивною бактерією, здатною утворювати термостійкі спори і бути шкідниками виробництва, а *E. coli* — грамнегативні бактерії, які можуть ще й спричиняти коліінфекції.

Встановлено, що за присутності ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 у концентрації 0,98 мг/мл спостерігалася загибель понад 90% клітин *B. subtilis* БТ-2 вже через 1 год експозиції. За нижчої концентрації ПАР (0,61 мг/мл) виживання клітин становило 53–55% незалежно від тривалості обробки. У разі оброблення *B. subtilis* БТ-2 препаратами ПАР *A. calcoaceticus* К-4 (0,15 мг/мл) кількість клітин тест-культури через 1 год зменшилася на 98,6%, а через 2 год — на 99,48%. За використання ПАР штаму К-4 у концентрації 0,22 мг/мл спостерігали 100%-ну загибель клітин *B. subtilis* БТ-2 незалежно від тривалості експозиції.

Препарати ПАР *R. erythropolis* ЕК-1, на відміну від *A. calcoaceticus* К-4, не виявляли антимікробної активності щодо *E. coli* ІЕМ-1. За концентрації 0,22 мг/мл ПАР штаму К-4 знижували виживання клітин *E. coli* ІЕМ-1 на 67%. Очевидно, різна антимікробна дія цих двох препаратів на клітини *E. coli*

зумовлена відмінностями у хімічній будові досліджуваних ПАР.

Відомо, що антимікробна дія препаратів залежить від фізіологічного стану тест-культур; крім того, актуальним залишається питання пошуку антимікробних речовин проти резистентних спорових мікроорганізмів. На прикладі тест-культури *B. subtilis* ІЕМ-1 нами було показано ефективність дії ПАР *A. calcoaceticus* К-4 проти як вегетативних, так і спорових клітин.

Порівняння отриманих нами експериментальних результатів із даними літератури показало, що препарати ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 за своєю антимікробною дією схожі на ПАР N1, яка була ефективною лише проти грампозитивних бактерій [11], а ПАР *A. calcoaceticus* К-4 — на ліпопептид *B. circulans* [17], який справляв сильнішу антимікробну дію на різні види бактерій роду *Bacillus*, ніж на *E. coli*.

### Антифунгальна дія ПАР мікробного походження

Розглянемо антимікробну дію ПАР окремо на мікроміцети і на дріжджі. При визначенні антифунгальної дії зазвичай як тест-культури використовують мікроорганізми, що спричиняють псування продуктів, захворювання рослин (фузаріози, суха гниль тощо), а також патогени, які викликають хвороби людей (наприклад, кандидози).

Найбільш ефективними проти мікроміцетів виявилися ПАР ліпопептидної природи, продуцентами яких є представники роду *Bacillus*. Антифунгальна активність характерна для сурфактину [9], ітурину (продуцент *B. subtilis*) [13], бамілоцину А (*B. amyloliquefaciem* LP03) [16] та ліпопептиду *B. subtilis* 20В [8] і *Bacillus* sp. ІВА 33 [32]. Бамілоцин А діяв на збудників псування цибулі, капусти, моркви, томатів, цукрового буряку *Bolrytis cineria*, захворювання плодів і овочів (фузаріоз) та псування картоплі (суха гниль) *Fusarium oxysporum*, який може спричиняти харчові отруєння, і *Rhizoctonia solani*, що викликає хвороби рослин [16], а ліпопептид *B. subtilis* 20В — на фітопатогенні гриби *Chrysosporium indicum*, *Alternaria burnsii*, *F. oxysporium*, *Fusarium udum*, *Trichoderma herzanium* і *Rhizoctonia bataticola* [8]. Ліпопептид *Bacillus* sp. ІВА 33 ефективний проти збудника псування лимонів *Geotrichum candidum* [32].

Ітурін характеризувався широким спектром дії [13] і був ефективним проти таких фітопатогенних грибів: *Macrophomina*

*phaseolina* (вугільна гниль), *Pythium ultimum*, *Pythium aphanidermatum* (коренева гниль), *Rhizoctonia solani* (ризоктоніозна хвороба), *Fusarium solani*, *F. oxysporum* (коренева гниль), *F. moniliforme* (фузаріозна гниль), *F. udum*, *Alternaria solani*, *Alternaria alternata* (альтернаріоз), *Aspergillus niger* (чорна цвіль). Не поступався йому за активністю й рамноліпід (продуцент *P. aeruginosa* AT10) [3]. Він діяв на *Aerobacidium pullulans*, *A. niger*, *Chaetonium globosum*, *Gliocadium virens*, *Penicillium crysogenum*, *Penicillium funiculosum*, *B. cinerea*, *Colletotrichum gloesporioides*, *R. solani*. Отже, не тільки ліпопептиди, а й гліколіпіди є ефективними антифунгальними препаратами.

Софороліпід діяв на збудника хвороб яблука, полуниці і томатів — *B. cineria* [21].

Серед описаних в літературі протидріжджових препаратів ПАР найбільшу увагу привертають гліколіпіди, продуковані представниками роду *Pseudozyma*. Наприклад, ПАР *P. fusiformata* (*Ustilaginales*) має низьку молекулярну масу, є термостійким і діє більш ніж на 80% із 280 досліджених видів дріжджів [22]. ПАР штаму VKM Y-2821 [23] у концентрації 0,6 мг/мл призводив до 100% -ї втрати АТФ із клітин дріжджів *Cryptococcus terreus*, *Candida albicans* і *Saccharomyces cerevisiae* через збільшення проникності цитоплазматичної мембрани. Інший гліколіпід флокулозин [26] (продуцент *P. flocculosa*) у концентрації 50 мкг/мл активніше діяв на *C. albicans*, *Candida glabrata*, *Candida lusitanae*, *S. cerevisiae*, *Trichosporon asahii* за кислих умов (рН 5,0), ніж за нейтрального рН. Проте при рН 7 за сумісного використання ПАР і антибіотика амфотерицину В (АМВ) антимікробна дія посилювалась. Взаємодія між флокулозином і АМВ спостерігалася вже в разі додавання 0,005 мкг/мл флокулозину, що давало змогу знизити кількість токсичного антибіотика. Припускають, що такої невеликої кількості флокулозину достатньо для порушення структури мембрани дріжджів і полегшення проникнення АМВ у клітини, де він зв'язується з ергостеролом і спричинює загибель клітин.

Разом з тим слід зазначити, що рамноліпід, який належить до гліколіпідів, не діяв на *C. albicans*, *S. cerevisiae* і *Rhodotorula rubra* [3]. Оскільки механізм дії ПАР ще остаточно не встановлено, неможливо точно визначити причини такої різної антимікробної дії поверхнево-активних речовин гліколіпідної природи.

ПАР, синтезовані молочнокислими бактеріями *Lactococcus lactis* 53 і *Streptococcus*

*thermophilus* А, виявились ефективними у досить низьких концентраціях (10–100 мг/мл) проти *C. albicans* і *C. tropicalis* [9]. Ліпопептид *B. brevis* НОВ1 діяв на *Pichia pastoris* [17], а ПАР *B. subtilis* — на *C. albicans* [11]. Отже, ліпопептиди є не досить ефективними антимікробними агентами щодо дріжджів. Можливо, це пов'язано з відмінностями у структурі й складі клітинної стінки та цитоплазматичної мембрани дріжджів, мікроміцетів і прокариотів.

Наші дослідження показали, що кількість живих клітин дріжджів роду *Candida* за присутності ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 (0,61–1,44 мг/мл) і *A. calcoaceticus* К-4 (0,15–0,22 мг/мл) знижувалась із підвищенням концентрації ПАР і збільшенням тривалості обробки. Так, через 2 год оброблення препаратами ПАР у найвищій з досліджуваних концентрацій спостерігали загибель 85% клітин *C. tropicalis*, 74% — *C. albicans* і 17% — *C. utilis*.

За своїм спектром дії на представників роду *Candida* ПАР штамів ЕК-1 і К-4 схожі на гліколіпіди *P. fusiformata* [22, 23] та є ефективнішими у значно нижчих концентраціях (до 1,5 мг/мл), ніж ПАР *L. lactis* 53 і *S. thermophilus* А (10–100 мг/мл) [9].

### Противірусна активність мікробних ПАР

Аналізуючи дані літератури, можна дійти висновку, що противірусній активності мікробних поверхнево-активних речовин приділяється значно менша увага порівняно з антимікробною дією. Відомо, що лише двом речовинам ліпопептидної природи (сурфактин і пумілацидин) і одній гліколіпідної (трегалозоліпіди) притаманна антивірусна активність. Найефективнішим виявився сурфактин [9], який діяв на широкий спектр вірусів: вірус лісу Семліки (збудник лихоманки), вірус простого герпесу (HSV), віруси герпесу свиней, везикулярного стоматиту, імунодефіциту мавп, кальцивірозу кишок та енцефаломіокардиту мишей. Аналог сурфактину (пумілацидин) і гліколіпід, синтезований *R. erythropolis*, виявляли антивірусну дію щодо простого вірусу герпесу 1 (HSV-1) [2].

Механізм противірусної дії вивчений лише для сурфактину. Показано, що цей ліпопептид є ефективнішим проти вірусів, що мають оболонку (ретровіруси, віруси герпесу), ніж проти безоболонкових вірусів. Таке явище зумовлено тим, що саме механізм дії ПАР пов'язаний із взаємодією молекул препарату із зовнішньою оболонкою вірусів

і утворенням у ній каналів з подальшою дезінтеграцією [9].

Отже, противірусна дія ПАР потребує більш докладного вивчення, оскільки цей напрям є актуальним і перспективним, особливо для пошуку ефективних препаратів для боротьби з ретровірусами і вірусом імунодефіциту людини.

### Антиадгезивна активність ПАР мікробного походження

Вже давно відома роль поверхнево-активних речовин ліпопротеїдної природи в захисті організму людини від інфекцій верхніх дихальних шляхів. Ці сурфактанти синтезуються та секретуються епітеліальними легневими клітинами у міжклітинний простір, де знижують поверхневий натяг на поверхні розподілу повітряно-рідинної фази легенів, що унеможлиблює прикріплення патогенних мікроорганізмів [11]. Таку антиадгезивну властивість встановлено й для мікробних поверхнево-активних речовин.

Відомо, що мікроорганізми у вигляді біоплівки, прикріплені до поверхні, є стійкішими до дії зовнішніх факторів порівняно із суспензійними культурами. ПАР мікробного походження пригнічують адгезію патогенних мікроорганізмів унаслідок власної попередньої адгезії на твердих поверхнях або в місцях інфікування [11].

У біології дослідження мікробних ПАР дозволяє передбачити та дослідити механізми формування і функціонування біоплівок, на утворення яких також можуть впливати ПАР через антиадгезивні властивості.

Найефективнішими і найдослідженішими є лактобацили, для яких характерна пробіотична дія. Вважають, що ці мікроорганізми у результаті конкуренції з іншими патогенами за адгезію на епітеліальних клітинах та за рахунок синтезу ПАР здійснюють контроль за мікрофлорою організму. Встановлено, що поверхнево-активні речовини *Lactobacillus acidophilus* і *L. fermentum* RC-14 [45] є ефективними у боротьбі з біоплівками уропатогенних мікроорганізмів, а пробіотичні штами *L. lactis* 53 та *S. thermophilus* A інгібують адгезію до силіконової підкладки збудників токсикоінфекцій та кандидозів. Експерименти показали, що ПАР ефективно знижували як початкову кількість клітин усіх досліджуваних штамів, так і кількість здатних до адгезії клітин через 4 год. Початковий рівень адгезії клітин через 4 год. Початковий рівень адгезії знижувався більш ніж на 90% для більшості досліджених бактеріальних шта-

мів. ПАР, синтезовані *S. thermophilus* A, виявили вищу активність проти *Rothia dentocariosa* GBJ 52/2B [6], який є збудником лімфоретикульозу. Рамноліпід виявився менш ефективним проти цього патогена, найефективніше він десорбував *Streptococcus salivarius* GB 24/9 (87,3%) [9].

Окрім гліколіпідів, антиадгезивна властивість притаманна й ліпопептидам. Так, після оброблення розчином сурфактину вінілових сечових катетерів (перед застосуванням) зменшувалась біоплівка, утворювана *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enterica*, *E. coli* та *Proteus mirabilis* [46], а віскозин інгібував адгезію *Listeria monocytogenes* LO28 на політетрафлуороетиленовій поверхні з нержавіючої сталі [9].

Отже, ПАР мікробного походження можуть бути ефективними у боротьбі з біоплівками, які формуються на твердих поверхнях і спричиняють отруєння та інфекції.

### Перспективи використання мікробних ПАР у терапії

Останнім часом зростає інтерес до визначення впливу ПАР на клітини людини і тварин [2, 11]. Було показано, що бактеріальні ПАР (ліпопептиди) є нетоксичними і непірогенними «помічниками» імунної системи. Вони підсилюють імунну відповідь і збільшують кількість антитіл в організмі [47]. Мікробні ПАР застосовують у лікуванні шизофренії та інших розладів, пов'язаних з дисфункцією метаболізму дофаміну [31]. ПАР виявляють антипухлинні властивості, стимулюючи диференціацію та апоптоз ракових клітин [31]. Також ПАР мікробного походження можуть спричинювати лізис тромбів, що є актуальним для профілактики хвороб серцево-судинної системи. Вивчення механізмів дії ПАР на тромби і ракові клітини дозволяє детальніше з'ясувати етапи виникнення цих хвороб і шляхи запобігання їх розвитку. Здатність МЕЛ до самоформування викликає інтерес у зв'язку з перспективою застосування у трансфекції генів і цільовому доставленні ліків в організм [31].

Отже, мікробні поверхнево-активні речовини можуть бути використані як перспективні альтернативні препарати з терапевтичними властивостями.

### Вплив мікробних ПАР на ракові клітини

З огляду на небезпечність ракових захворювань та надзвичайну шкідливість існуючих методів їх лікування, зокрема високу



токсичність протиракових препаратів, у край актуальним є пошук альтернативних засобів терапії раку. Мікробні ПАР демонструють антипухлинний потенціал проти ракових клітин різних ліній, а також здатні посилювати протиракову дію вже відомих препаратів.

Ефективними у боротьбі з раковими клітинами є як ліпо-, так і гліколіпіди, причому в приблизно однакових концентраціях (5–20 мкМ). Найдетальніше механізм дії на онкоклітини описано для манозилеритритолліпідів [31]. Так, МЕЛ пригнічують ріст промієлоцитних клітин лейкемії HL60 у концентрації 5–10 мкМ і провають зміни у їхній морфології, а також пригнічують активність фосфоліпід- та  $\text{Ca}^{2+}$ -залежної протеїнази С й інгібують серин/треонін фосфорилування 30 кДа протеїну. Більш того, МЕЛ справляють безпосередній вплив на внутрішньоклітинні передачі сигналів через фосфатну каскадну систему [31].

Деякі інакше впливають МЕЛ на нервові відростки клітин феохромоцитом шурів лінії РС-12. ПАР, аналогічно фактору росту нервів, підвищують активність ацетилхолінестерази, що в свою чергу призводить до диференціації клітин лінії РС-12 [9, 11].

Існують два принципово різні способи впливу на ракові клітини: індукція диференціації або апоптозу. Так, МЕЛ у концентрації 10 мкмоль/л індують процес апоптозу клітин меланоми мишей В16 через конденсацію хроматину і фрагментацію ДНК, а також стимулюють активність тирозинази і підвищують продукцію меланіну, що стимулює експресію маркерів диференціації клітин меланоми [9, 11].

Окрім стимуляції диференціації або апоптозу онкоклітин актуальним є виключення їх проліферації для запобігання утворенню метастазів. Так, було показано можливість використання із цією метою ліпопептиду віскозину у невисоких концентраціях (15 та 20 мкМ). Віскозин інгібував міграцію ракових клітин як простати (лінія РС-3М), так і молочної залози (лінія МДА-МВ-231) [7]. Хоча віскозин децю й поступався в активності фосфотидилінозитол-3-кінази, та все ж виявився достатньо ефективним.

Деякі гліколіпіди (наприклад, флокулозин) у вигляді монопрепаратів не впливали на ракові клітини, але були ефективними в суміші з протираковими лікарськими засобами (амфотерицин В), що давало змогу знизити кількість токсичного антибіотика [26].

Дані літератури щодо впливу мікробних ПАР на ракові клітини свідчать про не-

обхідність подальших розробок у цьому напрямі та доцільність дослідження ПАР мікробного походження як протиракових агентів.

### Застосування мікробних ПАР у генній терапії

Найпоширенішим у сучасній генотерапії способом корекції дефектів геному є введення в тканини і клітини терапевтичних генів у складі вірусних векторів або штучних макромолекулярних комплексів невірусної природи [49]. Причому вірусні вектори мають низку недоліків: вони можуть бути потенційно патогенними, спричинити імунну відповідь, порушувати регуляторні елементи інших генів та бути обмеженими в кількості перенесеної ними генетичної інформації [48]. Усіх цих недоліків не мають невірусні системи, серед яких головними є катіонні ліпосоми на основі синтетичних [50] та мікробних ПАР [27]. Одним із сучасних методів дослідження є створення векторних систем з використанням поверхнево-активних речовин гліколіпідної природи, що дає змогу підвищити ефективність трансформації.

Важлива фізіологічна роль мікробних ПАР — перенесення ДНК у природних умовах. Цей процес надзвичайно важливий для мікроорганізмів, оскільки після обміну генетичною інформацією вони здатні набувати нових ознак [31]. Мікробні ПАР забезпечують чужорідну ДНК від систем захисту клітини-реципієнта. Також вивчення мікробних ПАР може сприяти глибшому розумінню механізмів передачі ДНК від одних організмів до інших, особливо під час дослідження причин резистентності патогенних мікроорганізмів до антимікробних лікарських засобів та дезінфікантів.

Окрім природних умов, властивість мікробних ПАР впливати на процес трансформації ДНК може бути використаний і в генній терапії. ПАР можуть утворювати ліпосоми і переносити ДНК завдяки здатності до самоформування [31]. Цю здатність ПАР можна описати як спонтанну та зворотну організацію молекулярних груп у певну структуру за допомогою нековалентних зв'язків без втручання зовнішніх сил. Будь-які полярні молекули мають таку властивість. Наприклад, іонні та неіонні ПАР за умов високої концентрації розчину можуть самі по собі укладатись у тривимірні ліотропні кристали різної форми — кубічної, гексагональної тощо. Так, встановлено здатність

манозилеритритолліпідів (МЕЛ-С) до формування двох кристалічних фаз – гексагональної (Н) та ламелярної (L<sub>α</sub>) [27].

Загалом усі чотири класи МЕЛ різною мірою здатні до самоформування відповідно до варіації їх гідрофільності (табл. 5) [31].

Результати цих досліджень було впроваджено у практику. Автори [48] створили катіонні ліпосоми на основі МЕЛ-А, холестеролу (ДК-хол) і діолеїлфосфатидилетаноламіну (ДОФЕ), які назвали МЕЛ-L (МЕЛ-А ліпосоми). Олігодезоксинуклеотид (ОДН) використовували як ДНК, рівноцінну плазмідній ДНК. Комплекс ліпосоми з ДНК називається ліпоплексом. Як контрольну ліпосому використовували Cont-L, що складалася з тих самих компонентів, що й МЕЛ-L, але без манозилеритритолліпиду (табл. 6).

Показано, що введення МЕЛ-А в ліпосому зменшує її розмір, очевидно завдяки властивостям ПАР, а також підвищує ефективність трансформації (порівняно з іншими векторами) у клітини карциноми Хела людини, збільшує швидкість засвоєння клітинами-реципієнтами ліпоплексу, сприяє асоціації ліпідних частинок з клітиною та індукує проникнення ліпосоми і ДНК у цитоплазму й забезпечує краще доставлення ДНК у цитоплазму та до ядра клітини-мішені.

Отже, можна зробити висновок про те, що саме МЕЛ-L доцільно використовувати для трансформації ДНК і цілеспрямованого доставлення ліків до клітин, що може бути ефективним у генній терапії раку.

### Мікробні ПАР як тромболітичні агенти

Такі хвороби, як інфаркт міокарда, тромбоемболія легеневої артерії, ішемічний інсульт виникають через утворення тромбів, тому актуальним є пошук ефективних тромболітичних агентів, які б мали мінімум побічних ефектів. Одним з таких потенційних препаратів може бути сурфактин С [9, 11].

В організмі людини є плазміноген-плазміноген-система, відповідальна за розчинення згустків крові у різних фізіологічних і патологічних процесах, що вимагають локалізованого протеолізу. Плазміноген активується або протеолітично через плазміноген-активатор, або самостійно через конформаційні зміни. За цими двома шляхами і діяв сурфактин С, який у концентрації 3–20 мкМ ефективно підвищував фібринолізис *in vitro* та *in vivo*. Було показано, що в щурів, які хворіли на легеневу емболію, ліпопептид збільшував фібринолітичну активність плазми за введення його у комбінації з активатором плазміногену [9, 11].

Таблиця 5. Гомологи манозилеритритолліпідів та здатність їх до самоутворення

Тип МЕЛ	Розмір везикул (мкм)	ККМ (М)	Самоутворювані структури
МЕЛ-А	1–20	$4,0 \times 10^{-6}$	Сферичні краплі, великі одношарові везикули, пориста, гексагональна пластинчаста конструкція
Стандартний МЕЛ-В	1–20	$6,0 \times 10^{-6}$	Велетенські везикули та мультишарові пористі структури
МЕЛ-В (новий дистереомер <i>P. tsukubaensis</i> )	1–5	–	Одношарові конструкції та везикули
МЕЛ-С	–	–	Ламелярна та мієліноподібна структура
МЕЛ-С ( <i>P. siamensis</i> CBS 9960)	–	–	Ламелярна та гексагональна будова

Примітка: МЕЛ — манозилеритритолліпід; ККМ — критична концентрація міцелоутворення; «–» — даних немає.

Таблиця 6. Склад ліпосом на основі манозилеритритолліпідів мікробного походження

Ліпосома	Формула (молярне співвідношення)	Розмір часточок у воді, нм	ζ-потенціал, мВ	Розмір ліпоплексу, нм
МЕЛ-L	ДК-хол/ДОФЕ/МЕЛ-А — 3:2:2	43,4±2,8	52,9±2,0	168,6±3,7
Cont-L	ДК-хол/ДОФЕ — 3:2	156,4±2,4	70,5±1,2	265,3±101,4

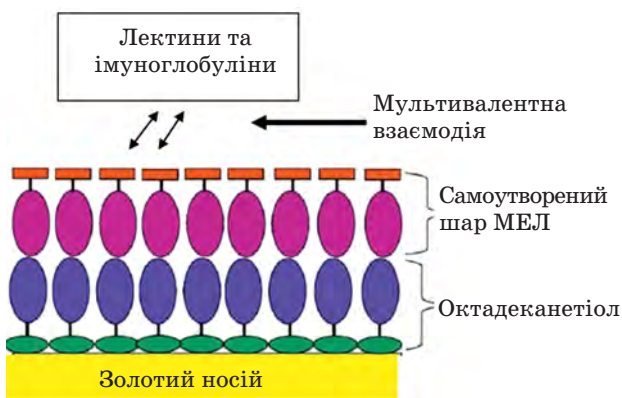
Примітка: МЕЛ — манозилеритритолліпід; ДК-хол — холестерол; ДОФЕ — діолеїлфосфатидилетаноламін.

### Очищення глікопротеїнів за допомогою мікробних ПАР

У біології та медицині широко використовують лектини як молекулярні зонди у процесі дослідження закономірностей диференціювання та функціонування клітин, виділення та дослідження багатьох біологічно активних речовин, у клініко-лабораторних та патоморфологічних дослідженнях; імуноглобуліни — у молекулярно-біологічних та імунологічних дослідженнях.

Зазвичай глікопротеїни (лектини, імуноглобуліни) виділяють хроматографічними методами (афінна, гель-хроматографія). Альтернативою таким методам очищення може бути використання «гібридних двошарових мембран» (ГДМ), що являють собою моношар алканетіолу, на який нанесено самоутворений моношар ПАР (рисунок) [31]. Поверхнево-активні речовини, які для цього використовують, належать до гліколіпідів (МЕЛ), що демонструють яскраво виражену здатність до самоформування та спорідненість (афінність) до глікопротеїнів [27, 31].

Експерименти показали, що зв'язувальна спорідненість між самоутвореними моношарами МЕЛ-А та HIgG у 25 разів вища, ніж для протеїну *A. S. aureus*, який широко використовують для виділення HIgG. Також цей показник у 6 разів перевищує значення для раніше досліджуваного комплексу МЕЛ-А та полі-(гідроксіетилметакрилату) [31].



Схематичне зображення гібридної двошарової мембрани та її взаємодії з глікопротеїнами

Високу спорідненість МЕЛ-А, МЕЛ-В та МЕЛ-С до імуноглобулінів людини, зокрема IgM та інших глікопротеїнів, було продемонстровано в ході інших незалежних досліджень. Результати їх доводять можливість потенційного застосування МЕЛ як лігандів у процесі очищення глікопротеїнів [31].

Результати досліджень взаємодії імуноглобулінів з МЕЛ-А свідчать про те, що подальша розробка технології виділення імуноглобулінів за допомогою ГДМ є досить перспективною.

### Посилення антимікробної дії ефірних олій за присутності інших речовин

Явище посилення антимікробної дії одних препаратів за додавання інших відомо досить широко. Наприклад, як вже зазначалося, мікробні поверхнево-активні речовини здатні синергічно посилювати дію антибіотиків на патогенні дріжджі [26]. Разом з тим досить цікавими антимікробними агентами можуть бути ефірні олії, які вже широко використовують для боротьби з патогенами. Так, наприклад, виявлено виражену антигрибкову активність в ефірних олій кмину звичайного, чайного дерева і кропу пахучого [51]. Найвища бактерицидна активність щодо облигатних анаеробних мікроорганізмів притаманна ефірним оліям евкаліпту шарикового, чайного і сандалового дерева [51]. Також відома антимікробна дія ефірної олії троянди [52] проти грамнегативних (*Chromobacterium violaceum*, *E. coli*, *P. aeruginosa*), грампозитивних (*B. subtilis*, *S. aureus*) мікроорганізмів і патогену рослин *Erwinia carotovora*. Проте не завжди ефірні олії є ефективними. Наприклад, ефірна олія чайного дерева не діяла на метицилінрезистентний золотистий стафілокок [53], який є добре відомим патогеном. Тривають активні пошуки антимікробних агентів, до яких він був би чутливим. Тому досить перспективним є підхід, який пропонує спільне використання антибіотиків і ефірних олій для досягнення синергічної дії обох препаратів. У роботі [53] показано посилення антимікробної дії оксациліну за його сумісного використання з поліфенолами зеленого дерева, завдяки чому вдавалося знизити мінімальну інгібуючу концентрацію антибіотика.

У літературі пропонують такі механізми синергічного впливу [53, 54]: порушення функції клітинної стінки мікроорганізмів унаслідок зв'язування пептидоглікану; вплив на бактерійні мембрани (порушення цілісності, зміна співвідношення насичених і ненасичених жирних кислот, порушення функції ензимних систем); дія на продукування екзогенних протеїнів, які відіграють важливу роль у резистентності патогенних мікроорганізмів.

У роботі [54] розглядається посилення антимікробної дії консервантів на *P. aerugi-*

*nosa* і *S. aureus* за їх сумісного застосування із синтетичними поверхнево-активними речовинами або ефірними оліями.

Таким чином, у літературі є згадування про спільне використання або синтетичних ПАР і антибіотиків, або ефірних олій з різними антимікробними агентами, проте відсутні дані про посилення антимікробної дії ефірної олії поверхнево-активними речовинами мікробного походження. Ми припустили, що завдяки емульгувальним та антимікробним властивостям ПАР можуть підвищувати ефективність впливу олії на патогенні мікроорганізми.

Наші дослідження показали, що ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 посилюють антимікробну дію олії чайного дерева на певні мікроорганізми (*C. albicans*, *A. niger*, *S. aureus*) завдяки власним як антимікробним, так і емульгувальним властивостям. Так, за одночасного внесення в суспензію досліджуваних тест-культур ( $10^4$ – $10^5$  клітин/мл) емульсії на основі олії чайного дерева (12,5 мкл/мл) і ПАР (0,43 мг/мл) кількість живих клітин через 15 хв експозиції була на 0,7–66% нижчою, ніж у разі оброблення суспензії мікроорганізмів препаратами олії без поверхнево-активних речовин.

Отже, наведені в літературі та власні експериментальні дані свідчать про перспективність використання ПАР мікробного походження у біології й медицині. Незважаючи на те, що перші повідомлення про антивірусні властивості мікробних ПАР з'явилися ще наприкінці 80-х років ХХ ст., активні дослідження антимікробної дії цих продуктів мікробного синтезу припадають на останні кілька років. Можна сподіватися,

що поверхнево-активні речовини мікробного походження у майбутньому можуть стати альтернативою антибіотикам. Крім того, встановлено дію мікробних ПАР на ракові клітини та віруси імунодефіциту людини, тому вони можуть стати незамінними у боротьбі з цими смертельними хворобами.

Мікробні ПАР можуть бути перспективними не тільки в медицині, а й у біології. Їх можна використовувати для очищення лектинів та імуноглобулінів, у молекулярно-біологічних та генетичних дослідженнях замість таких широко застосовуваних хімічних сурфактантів, як Тритон Х-100 та додецилсульфат натрію, для вивчення морфології та фізіології клітин мікроорганізмів, принципів формування і функціонування біоплівки, механізмів перенесення ДНК та утворення ракових клітин і тромбів.

Слід зазначити, що на цей час промислове виробництво мікробних ПАР у світі стримується високими витратами на біосинтез (сировина, енергетика), виділення та очищення цільового продукту, а також недостатньо високою продуктивністю штамів-продуцентів [55]. Проте використання дешевих субстратів, оптимізація складу живильного середовища та умов культивування, впровадження у виробництво ступінчастої схеми виділення ПАР можуть суттєво змінити ситуацію. Зниження собівартості цільового продукту можливе за умови використання нових штамів-надсинтетиків ПАР. Можна сподіватися, що практичні властивості мікробних ПАР, особливо для використання у медицині, стимулюватимуть і дослідження, спрямовані на інтенсифікацію технологій їхнього виробництва.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Лисиця А. В., Кривошия П. Ю., Шатурський О. Я. Вплив полігексаметиленгуанідину гідрохлориду на плазматичну мембрану фібробластів курячих ембріонів та на штучну бішарову ліпідну мембрану // Біотехнологія. — 2010. — Т. 3, № 2. — С. 56–61.
2. Banat I. M., Makkar R., Cameotra S. Potential commercial applications of microbial surfactants // Appl. Microbiol. Biotechnol. — 2000. — V. 53, N 5. — P. 495–508.
3. Abalos A., Pinazo A., Infante M. R. et al. Physicochemical and antimicrobial properties of new rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from soybean oil refinery wastes // Langmuir. — 2001. — V. 17, N 5. — P. 1367–1371.
4. Gerard J., Lloyd R., Barsby T. et al. Masetolides A-H, antimycobacterial cyclic depsipeptides produced by two pseudomonads isolated from marine habitats // J. Nat. Prod. — 1997. — V. 60, N 3. — P. 223–229.
5. Maier R., Soberon-Chavez G. *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids biosynthesis and potential applications // Appl. Microbiol. Biotechnol. — 2000. — V. 54, N 5. — P. 625–633.
6. Rodrigues L. R., Banat I. M., van der Mei H. C. et al. Interference in adhesion of bacteria and yeasts isolated from explanted voice prostheses to silicone rubber by rhamnolipid biosurfactants // J. Appl. Microbiol. — 2006. — V. 100, N 3. — P. 470–480.

7. Saini H., Barragan-Huerta B., Lebroan-Paler A. Efficient purification of the biosurfactant viscosin from *Pseudomonas libanensis* strain M9-3 and its physicochemical and biological properties // J. Nat. Prod. — 2008. — V. 71, N 6. — P. 1011–1015.
8. Joshi S., Bharucha C., Desai A. J. Production of biosurfactant and antifungal compound by fermented food isolate *Bacillus subtilis* 20B // Bioresour. Technol. — 2008. — V. 99, N 11. — P. 4603–4608.
9. Rodrigues L., Banat I. M., Teixeira J., Oliveira R. Biosurfactants: potential applications in medicine // J. Antimicrob. Chemother. — 2006. — V. 57, N 4. — P. 609–618.
10. Vollenbroich D., Pauli G., Ozel M., Vater J. Antimycoplasma properties and applications in cell culture of surfactin, a lipopeptide antibiotic from *Bacillus subtilis* // Appl. Environ. Microbiol. — 1997. — V. 63, N 1. — P. 44–49.
11. Singh P., Cameotra S. Potential applications of microbial surfactants in biomedical sciences // Trend. Biotechnol. — 2004. — V. 22, N 3. — P. 142–146.
12. Ahimou F., Jacques P., Deleu M. Surfactin and iturin A effects on *Bacillus subtilis* surface hydrophobicity // Enzyme Microb. Technol. — 2000. — V. 27, N 10. — P. 749–754.
13. Grover M. Nain L., Singh S. B., Saxena A. K. Molecular and biochemical approaches for characterization of antifungal trait of a potent biocontrol agent *Bacillus subtilis* RP24. // Curr. Microbiol. — 2010. — V. 60, N 2. — P. 99–106.
14. Naruse N., Tenmyo O., Kobaru S. et al. Pumilacidin, a complex of new antiviral antibiotics: production, isolation, chemical properties, structure and biological activity // J. Antibiot. (Tokyo). — 1990. — V. 43, N 3. — P. 267–280.
15. Yakimov M., Timmis K., Wray V., Fredrickson H. L. Characterization of a new lipopeptide surfactant produced by thermotolerant and halotolerant subsurface *Bacillus licheniformis* BAS50 // Appl. Environ. Microbiol. — 1995. — V. 61, N 5. — P. 1706–1713.
16. Lee S., Kim S., Chung S., Choi Y. Isolation and structural analysis of bamylocin A, novel lipopeptide from *Bacillus amyloliquefaciens* LP03 having antagonistic and crude oil-emulsifying activity // Arch. Microbiol. — 2007. — V. 188, N 4. — P. 307–312.
17. Das P., Mukherjee S., Sen R. Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactant derived from a marine *Bacillus circulans* // J. Appl. Microbiol. — 2008. — V. 104, N 6. — P. 1675–1684.
18. Haddad N. I., Wang J., Mu B. Isolation and characterization of a biosurfactant producing strain, *Brevibacillus brevis* HOB1 // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. — 2008. — V. 35, N 12. — P. 1597–1604.
19. Shibahara M., Zhao X., Wakamatsu Y. et al. Mannosylerythritol lipid increases levels of galactoceramide in and neurite outgrowth from PC12 pheochromocytoma cells // Cytotechnology. — 2000. — V. 33, N 1–3. — P. 247–251.
20. Zhao X., Geltinger C., Kishikawa S. et al. Treatment of mouse melanoma cells with phorbol 12-myristate 13-acetate counteracts mannosylerythritol lipid-induced growth arrest and apoptosis // Cytotechnology. — 2000. — V. 33, N 1–3. — P. 123–130.
21. Kim K. J., Yoo D. S., Kim Y. B. et al. Characteristics of sophorolipid as an antimicrobial agent // J. Microbiol. Biotechnol. — 2002. — V. 12, N 2. — P. 235–241.
22. Kulakovskaya T., Kulakovskaya E., Golubev W. ATP leakage from yeast cell treated by extracellular glycolipids of *Pseudozyma fusiformata* // FEMS Yeast Res. — 2003. — V. 3, N 4. — P. 401–404.
23. Kulakovskaya T., Shashkov A., Kulakovskaya E., Golubev W. Ustilagic acid secretion by *Pseudozyma fusiformata* strains // FEMS Yeast Res. — 2005. — V. 5, N 10. — P. 919–923.
24. Uchida Y., Misava S., Nakahara T. et al. Factors effecting the formation of succinoyl-trehalose lipids by *Rhodococcus erythropolis* SD-74 grown on n-alkans // Agric. Biol. Chem. — 1989. — V. 53, N 3. — P. 765–769.
25. Uchida Y., Truchiya R., Chino M. et al. Extracellular accumulation of monon and disuccinyl trehalose lipids by a stain of *Rhodococcus erythropolis* grown on n-alkans // Ibid. — 1989. — V. 53, N 3. — P. 757–763.
26. Mimeo B., Labbe C., Pelletier R., Belanger R. R. Antifungal activity of flocculosin, a novel glycolipid isolated from *Pseudozyma flocculosa* // Antimicrob. Agents Chemother. — 2005. — V. 49, N 4. — P. 1597–1599.
27. Morita T., Konishi M., Fukuoka T. et al. Production of glycolipid biosurfactants, mannosylerythritol lipids, by *Pseudozyma siamensis* CBS 9960 and their interfacial properties // J. Biosci. Bioeng. — 2008. — V. 105, N 5. — P. 493–502.
28. Busscher H. J., van de Belt-Gritter B., Westerhof M. et al. Microbial interference in the colonization of silicone rubber implant surfaces in the oropharynx: *Streptococcus thermophilus* against a mixed fungal/bacterial biofilm. In: Microbial Ecology and Infectious Disease / Ed. E. Rosenberg. — Washington, DC: ASM, 1999. — P. 66–74.
29. Rodrigues L. R., van der Mei H. C., Teixeira J., Oliveira R. Influence of biosurfactants from probiotic bacteria on formation of biofilms on voice prostheses // Appl. Environ. Microbiol. — 2004. — V. 70, N 7. — P. 4408–4410.

30. Velraeds M., van der Mei H. C., Reid G. et al. Inhibition of initial adhesion of uropathogenic *Enterococcus faecalis* by biosurfactants from *Lactobacillus* isolates // *Ibid.* — 1996. — V. 62, N 6. — P. 1958–1963.
31. Arutchelvi J. I., Bhaduri S., Uppara P. V., Doble M. Mannosylerythritol lipids: a review // *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* — 2008. — V. 35, N 12. — P. 1559–1570.
32. Maldonado M. C., Corona J., Gordillo M. A., Navarro A. R. Isolation and partial characterization of antifungal metabolites produced by *Bacillus* sp. IBA 33 // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* — 2009. — V. 59, N 6. — P. 646–650.
33. Dubern J. F. Regulation of the biosynthesis of novel cyclic lipopeptides from *Pseudomonas putida* strain PCL1445. — Ph. D thesis. — ISBN: 90-9020584-5. — Ridderkerk, The Netherlands, 2006. — 174 p.
34. Gan B., Kim J., Reid G. et al. *Lactobacillus fermentum* RC-14 inhibits *Staphylococcus aureus* infection of surgical implants in rats // *J. Infect. Dis.* — 2002. — V. 185, N 9. — P. 1369–1372.
35. Mark D. R., Michail S., Wei S. et al. Probiotic inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence *in vitro* by inducing intestinal mucin gene expression // *Am. J. Physiol.* — 1999. — V. 276, N 4, Pt 1. — P. 941–950.
36. Пирог Т. П., Шевчук Т. А., Волошина И. Н., Гречирчак Н. Н. Использование иммобилизованных на керамзите клеток нефтеокисляющих микроорганизмов для очистки воды от нефти // *Прикл. биохим. микробиол.* — 2005. — Т. 41, № 1. — С. 58–63.
37. Пирог Т. П., Шевчук Т. А., Волошина И. Н., Карпенко Е. И. Образование поверхностно-активных веществ при росте штамма *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 на гидрофильных и гидрофобных субстратах // *Там же.* — 2004. — Т. 40, № 5. — С. 544–550.
38. Пирог Т. П., Антонюк С. И., Карпенко Е. В., Шевчук Т. А. Влияние условий культивирования штамма *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 на синтез поверхностно-активных веществ // *Там же.* — 2009. — Т. 45, № 3. — С. 304–310.
39. Пирог Т. П., Волошина И. Н., Игнатенко С. В., Вильданова-Марцишин Р. И. Некоторые закономерности синтеза поверхностно-активных веществ при росте штамма *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 на гексадекане // *Биотехнология.* — 2005. — № 6. — С. 27–36.
40. Пирог Т. П., Игнатенко С. В., Тарасенко Д. О. Влияние качества посівного матеріалу на синтез поверхнево-активних речовин штамом *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 // *Мікробіол. журн.* — 2008. — Т. 70, № 4. — С. 9–17.
41. Пирог Т. П., Корж Ю. В., Шевчук Т. А., Тарасенко Д. О. Роль екзогенних попередників в утворенні поверхнево-активних речовин під час культивування *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 на етанолі // *Там само.* — 2008. — Т. 70, № 6. — С. 11–18.
42. Пирог Т. П., Тарасенко Д. А. Влияние фумарата и цитрата на образование поверхностно-активных веществ штаммом *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 // *Биотехнология.* — 2008. — № 3. — С. 48–55.
43. Пирог Т. П., Корж Ю. В., Шевчук Т. А., Тарасенко Д. А. Особенности C<sub>2</sub>-метаболизма и интенсификация синтеза поверхностно-активных веществ у штамма *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1, растущего на этаноле // *Микробиология.* — 2008. — Т. 77, № 6. — С. 749–757.
44. Пирог Т. П., Шевчук Т. А., Клименко Ю. О. Особливості окиснення алканів у *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 — продуцента поверхнево-активних речовин // *Мікробіол. журн.* — 2009. — Т. 71, № 4. — С. 9–13.
45. Heinemann C., van Hylckama V., Vlieg J. E., Janssen D. Purification and characterization of a surface-binding protein from *Lactobacillus fermentum* RC-14 that inhibits adhesion of *Enterococcus faecalis* 1131 // *FEMS Microbiol. Lett.* — 2000. — V. 190, N 1. — P. 177–180.
46. Mireles J. R., Toguchi A., Harshey R. M. *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* swarming mutants with altered biofilm-forming abilities: surfactin inhibits biofilm formation // *J. Bacteriol.* — 2001. — V. 183, N 20. — P. 5848–5854.
47. Mittenbuhler K., Loleit M., Baier W. et al. Drug specific antibodies: T-cell epitope-lipopeptide conjugates are potent adjuvants for small antigens *in vivo* and *in vitro* // *Int. J. Immunopharmacol.* — 1997. — V. 19, N 5 — P. 277–287.
48. Igarashi S., Hattori Y., Maitani Y. Biosurfactant MEL-A enhances cellular association and gene transfection by cationic liposome // *J. Controll. Releas.* — 2006. — V. 112, N 3. — P. 362–368.
49. Галкін О. Ю., Бондаренко Л. Б., Грішина А. С., Дузан О. М. Системи цілеспрямованого доставлення лікарських засобів. Біотехнологічні аспекти // *Біотехнологія.* — 2009. — Т. 2, № 1. — С. 46–58.
50. Заїченко О. С., Стойка Р. С., Міміна Н. Є. та ін. Нові функціональні нанорозмірні композити на основі олігопероксидних сурфактантів: синтез і застосування в біології та медицині // *Там само.* — 2008. — Т. 1, № 1. — С. 86–99.
51. Бородина А. В. Сравнительный анализ антимикробной активности эфирных масел

- // Арх. клин. эксперим. мед. — 2004. — Т. 13, № 1–2. — С. 65–67.
52. *Ulusoy S., Bosgelmez-Tinaz G., Secilmis-Canbay H.* Tocopherol, carotene, phenolic contents and antibacterial properties of rose essential oil, hydrosol and absolute // *Curr. Microbiol.* — 2009. — V. 59, N5. — P. 554–558.
53. *Cho Y. S., Schiller N. L., Oh K. H.* Antibacterial effects of green tea polyphenols on clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // *Ibid.* — 2008. — V. 57, N 6. — P. 542–546.
54. *Patrone V., Campana R., Vittoria E., Baffone W.* *In vitro* synergistic activities of essential oils and surfactants in combination with cosmetic preservatives against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* // *Ibid.* — 2010. — V. 60, N 4. — P. 237–241.
55. *Пирог Т. П., Ігнатенко С. В.* Мікробні поверхнево-активні речовини: проблеми промислового виробництва // *Біотехнологія.* — 2008. — Т. 1, № 4. — С. 29–38.

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОБНЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

*Т. П. Пирог  
А. Д. Конон  
А. Б. Скочко*

Национальный университет  
пищевых технологий, Киев

*E-mail: tapirog@usuft.kiev.ua*

Представлены данные литературы и результаты собственных экспериментальных исследований практического использования микробных поверхностно-активных веществ (ПАВ) в биологии и медицине. Рассмотрены и проанализированы антимикробные (противовирусные, антибактериальные, антифунгальные) свойства ПАВ микробного происхождения, их антиадгезивная активность, перспективы использования этих продуктов микробного синтеза в терапевтических целях (в качестве тромболитических и противоопухолевых агентов, как составляющие липосом для целевой доставки лекарств, для усиления антимикробного действия эфирных масел, применения в генной терапии и др.).

Обсуждаются перспективы использования микробных ПАВ в молекулярно-биологических, генетических, цитологических и иммунологических исследованиях.

**Ключевые слова:** микробные поверхностно-активные вещества, антимикробное действие, антиадгезивные свойства, генная терапия, биология, медицина.

### MICROBIAL SURFACE ACTIVE SUBSTANCES USE IN BIOLOGY AND MEDICINE

*T. Pirog  
A. Konon  
A. Skochko*

National University  
of Food Technologies, Kyiv

*E-mail: tapirog@usuft.kiev.ua*

Literature data and results of own experiments concerning practical use of microbial surface active substances (SAS) in biology and medicine are given. The antimicrobial (antiviral, antibacterial, antifungal) properties, antiadhesive activity, potential therapeutic use of these products (such as thrombolytic and antitumor agents, liposome compounds for drug target transport, increasing of antimicrobial effect of essential oils, use for gene therapy, etc.) are studied and analyzed.

The perspectives of microbial surface active substances use in molecular biology, genetic, cytology and immunology investigations are discussed.

**Key words:** microbial surface active substances, antimicrobial properties, antiadhesive activity, gene therapy, biology, medicine.