

# Поиск новых видов сырья для получения антибактериальных препаратов

М. Л. СИДОРЕНКО<sup>1</sup>, Л. С. БУЗОЛЕВА<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток

<sup>2</sup> НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, Владивосток

<sup>3</sup> Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

## Search for New Types of Raw Materials for Antibacterial Drugs

M. L. SIDORENKO, L. S. BUZOLEVA

Institute of Biology and Soil Science, Far East Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok

Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences, Vladivostok

Far East Federal University, Vladivostok

Исследовали антибактериальные свойства культурального мицелия *Fomitopsis officinalis* (Vill.: Fr.) Bondartsev et Singer. Показано, что листовничная губка может являться дополнительным источником получения антибактериальных веществ, активных в отношении грамотрицательных бактерий. В перспективе имеется возможность использования лекарственного трутовика для получения антибактериальных препаратов против псевдотуберкулёзного микроба, псевдомонад.

**Ключевые слова:** мицелий, антибактериальные свойства, микроорганизмы.

Antibacterial properties of the mycelium culture of *Fomitopsis officinalis* (Vill.: Fr.) Bondartsev et Singer were investigated. It was shown to be an additional source for production of antibacterial substances active against gramnegative bacteria. In the future, the use of *Fomitopsis officinalis* for production of antibacterial substances active against the pseudotuberculosis pathogen or pseudomonads is quite possible.

**Key words:** mycelium, antibacterial properties, microorganisms.

## Введение

Ретроспективная оценка событий в XX веке после зарождения антимикробной химиотерапии позволяет считать этот век своего рода первым раундом, проходившим вначале с преимуществом создателей антимикробных препаратов, а затем в равной борьбе человека с патогенными микроорганизмами, при которой почти на каждый новый химиотерапевтический препарат у них находился (правда, спустя несколько лет) нейтрализующий ответ; иногда же патогены, образно говоря, вообще перехватывали инициативу — общеизвестный пример с туберкулёзной инфекцией [1].

Задолго до начала эры антибиотиков биологически активные вторичные метаболиты, образуемые микроорганизмами в качестве оружия в борьбе за существование, были частью природных экосистем [2, 3]. Естественно, что в соответствующих экологических нишах в процессе эволюции микроорганизмы и, прежде всего, продуценты антибиотиков, чтобы избежать само-

убийства, должны были сформировать механизмы устойчивости. Несомненно, что широкое применение антибиотиков оказывает селективное давление, способствующее распространению устойчивых штаммов микроорганизмов [4].

В настоящее время в отечественной и мировой науке наблюдается повышенный интерес к изучению грибов. Это связано, прежде всего, с кардинальным пересмотром значимости и уникальности экологических функций, контролируемых грибами в природных экосистемах. Во-вторых, грибы были и остаются одним из основных и перспективных объектов биотехнологии.

Повышенному интересу к грибам способствовали многочисленные исследования, показавшие, что эти организмы могут стать незаменимыми источниками для получения лекарственных препаратов, имеющих ранозаживляющую, антиспидовую, иммуномодулирующую и, особенно, противораковую активности [5]. Перспективным источником функциональных продуктов являются грибы класса *Basidiomycetes*. О. П. Низовская [6] считает, что различные экологические и систематические группы высших *Basidiomycetes* отличаются характером антибиотического спектра.

© М. Л. Сидоренко, Л. С. Бузолева, 2012

Адрес для корреспонденции: 690022 г. Владивосток Проспект 100-летия Владивостоку, 159. Биолого-почвенный институт ДВО РАН

Образование антибиотиков более присуще доразрушающим базидиомицетам. Среди них свойство образовывать антибиотики в большей мере характерно для возбудителей бурой гнили древесины. Одним из направлений поиска новых природных антибиотиков является изучение видов, ранее не рассматривавшихся в качестве возможных продуцентов антибиотиков.

Поэтому особое внимание привлекает ксилитрофный базидиомицет *Fomitopsis officinalis* (Vill.: Fr.) Bondartsev et Singer [7], известный как трутовик лекарственный или листовенничная губка. Из литературных данных известна биологическая активность углекислотного экстракта плодового тела *Fomitopsis officinalis* в отношении *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* [8]. Однако нет литературных данных, указывающих на возможность культуры листовенничной губки проявлять антибиотические свойства против грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Листовенничная губка активно используется в народной и официальной медицине на протяжении нескольких тысячелетий. Отличается выраженной физиологической активностью, проявляет седативное, кровоостанавливающее действие, благотворно влияет на лёгкие и желудок [9], а также успешно используется против изнурительных потов у туберкулёзных больных и в парфюмерной промышленности как антиперспирант. Опыт японских врачей-фунготерапевтов показал, что трутовик восстанавливает нарушенные функции печени по секреции жёлчи и других ферментов, расщепляющих жиры, поэтому его используют в составе диеты похудения, для снижения веса и коррекции фигуры [10].

В настоящее время естественные ресурсы этого вида истощены, и как редкий исчезающий вид он внесен во многие региональные Красные книги. Это единственный вид трутовых грибов, который планируется внести в Красную книгу России [11]. Поэтому данная работа направлена на решение не только одной из приоритетных задач, стоящих перед отечественной наукой — «Химический и биологический синтез лекарственных средств и пищевых продуктов» (Постановление Правительства РФ N 2727/п-П8 от 21 июля 1996 г.), — но и на решение фундаментальных вопросов сохранения биологического разнообразия.

В связи с этим нами были проведены исследования, целью которых явилось выявление антибактериальных свойств культурального мицелия *Fomitopsis officinalis* (Vill.: Fr.) Bondartsev et Singer.

## Материал и методы

В работе использован штамм *Fomitopsis officinalis*, выделенный из плодового тела базидиального гриба *Fomitopsis officinalis* (Vill.) Bondartsev et Singer (= *Laricifomes officinalis* (Vill.) Kotl. et Pouzar) (гербарий VLA M20673), найденного на листовеннице даурской (*Larix dahurica* (Rupr.) Rupr.) в за-

поведнике «Бастак» (Еврейская автономная область) и хранится в коллекции культур Биолого-почвенного института ДВО РАН.

Культуру хранили при 4°C на сусле-агаре, с содержанием сахара 4° по Баллингу, выращивали в данных условиях в течение 7—10 сут при комнатной температуре и далее помещали в холодильник. Пересевали на свежеприготовленную среду 1 раз в год.

Штаммы патогенных микроорганизмов получены из коллекции ФГБУ НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН: *Yersinia pseudotuberculosis* (штаммы 282, 512, 907, 3515, 2781); *Escherichia coli*; *Pseudomonas putida* 449, *P.fluorescence* 581; *Staphylococcus aureus* 6538p/206p; *Listeria monocytogenes* (114/31, 1/2 b, 56 T, 1/2 a, 4b); *Salmonella typhimurium* 930.

В эксперименте была использована поверхностно выращенная культура *F.officinalis* на агаризованных средах следующего состава: пивное сусло 4° по Баллингу; глюкозная среда 4 (г/л): глюкоза — 20, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> — 3.5, KCl — 0.5, K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 1, MgSO<sub>4</sub> — 0.5, сусло (15° по Баллингу) — 115 мл, вода дистиллированная — до 1 л; глюкозная среда 2 (г/л): глюкоза — 20, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> — 3.5, KCl — 0.5, K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 1, MgSO<sub>4</sub> — 0.5, сусло (15° по Баллингу) — 115 мл, вода из водопровода — до 1 л; глюкозо-пептонная среда (г/л): KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 1.0, MgSO<sub>4</sub> — 1.0, KCl — 0.5, пептон — 5.0, глюкоза — 30 [12—14].

Исследуемый гриб высевали на агаризованную среду в чашку Петри. После того как он хорошо вырос, пробочным сверлом (диаметр 5 мм) вырезали агаровые блоки из колоний гриба и переносили их на поверхность другой агаровой среды, предварительно засеянной одним тест-микроорганизмом. Чашки с агаровыми блоками помещали в термостат на трое суток при температуре, оптимальной для развития тест-культуры. Если выделяемый грибом антибиотик подавлял рост тест-микроба, то вокруг агарового блока образовывалась зона отсутствия роста.

## Результаты и обсуждение

В результате исследований была установлена антибактериальная активность поверхностного мицелия в отношении *Yersinia pseudotuberculosis* (рис. 1, табл. 1). Во всех вариантах наблюдаются зоны лизиса (в пределах 12—24 см). Полученные результаты сравнимы с действием общепринятых противомикробных препаратов, а в некоторых случаях превышают действие таковых. В большей степени наблюдалась активность *Fomitopsis officinalis*, выращенной на глюкозной среде 2 (г/л): глюкоза — 20, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> — 3.5, KCl — 0.5, K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 1, MgSO<sub>4</sub> — 0.5, сусло (15° по Баллингу) — 115 мл, вода из водопровода — до 1 л. Из литературных данных известно, что в микологии принято в состав питательных сред добавлять воду из водопровода, так как именно в ней содержится большое количество различных химических элементов, что стимулирует образование антибактериальных веществ [6, 15].

Также культура проявляет антибактериальную активность в отношении *Pseudomonas putida* 449, *Pseudomonas fluorescence* 581 (рис. 2). Но зоны лизиса гораздо меньше. При этом наибольшую активность проявляла культура, выращенная на глюкозных средах 2 и 4.

Таким образом, введение в среду, состоящую из одного только сусле, дополнительного компонента,

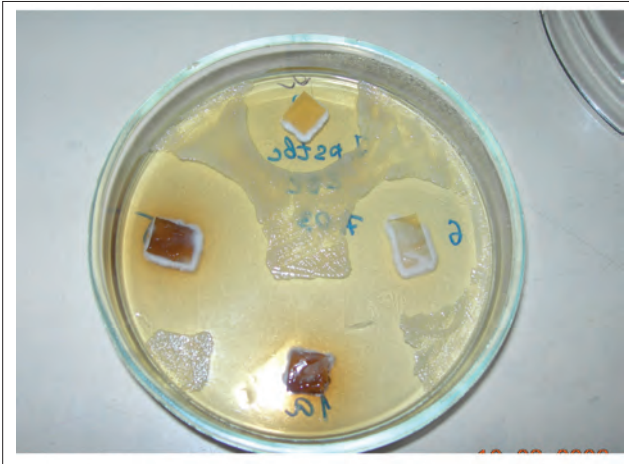


Рис. 1. Антибактериальная активность поверхностного мицелия листовенничной губки против *Yersinia pseudotuberculosis*, штамм 282.

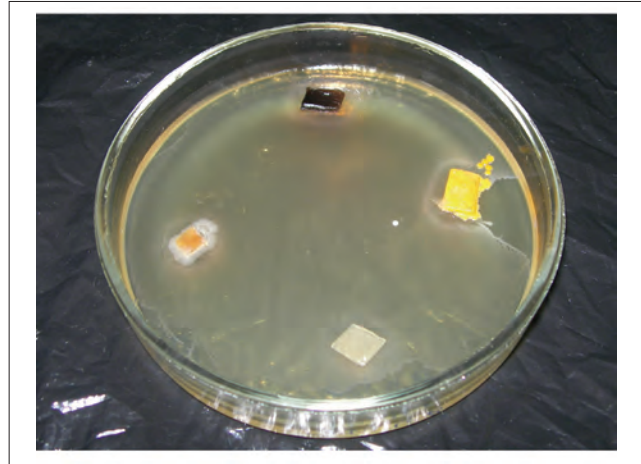


Рис. 3. Антибактериальная активность поверхностного мицелия листовенничной губки против *Listeria monocytogenes*, штамм 4b.



Рис. 2. Антибактериальная активность поверхностного мицелия листовенничной губки против *Pseudomonas putida*, штамм 449.

являющегося источником питания приводит к стимуляции биосинтеза антибактериальных веществ.

Также, наблюдались небольшие зоны лизиса (от 1 до 3 мм) против *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*. В отношении *Listeria monocytogenes* были отмечены зоны ферментации (рис. 3). Однако *Staphylococcus aureus*, наоборот, проявлял активный рост в присутствии культуры листовенничной губки.

Таким образом, результаты работы показали, что листовенничная губка может являться дополнительным источником получения антибактериальных веществ в отношении грамотрицательных бактерий. В перспективе имеется возможность использования лекарственного трутовика в качестве получения антибактериальных препаратов против псевдотуберкулёзного микроба, псевдомонад.

Таблица 1. Бактериальная активность *Fomitopsis officinalis* (Vill.: Fr.) Bond. et Sing, в отношении различных штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*

Штаммы	Диаметр зон отсутствия роста бактерий, мм (в повторности)			
	1	2	3	4
<i>Y.pseudotuberculosis</i> шт. 282	23	24	17	14
<i>Y.pseudotuberculosis</i> шт. 907	20	20	13	15
<i>Y.pseudotuberculosis</i> шт. 512	20	18	14	14
<i>Y.pseudotuberculosis</i> шт. 3515H	19	16	12	12

## ЛИТЕРАТУРА

- Егоров А. М., Сазыкин Ю. О. Инновационные пути создания новых антибактериальных препаратов. Антибиотики и химиотер 2001; 46; 11: 3—6.
- Гаузе Г. Ф., Максимова Т. С., Ольховатова О. Л. Роль антибиотиков в экологии актиномицетов. Антибиотики 1979; 24: 2: 83—86.
- Hansen L. H., Ferrari B., Sorensen A. H. et al. Detection of oxytetracycline production by *Streptomyces rimosus* in soil microcosms by combining whole-cell biosensors and flow cytometry. Appl Environ Microbiol 2001; 67: 239—244.
- Дудник Ю. В. Экология лекарственной устойчивости. Антибиотики и химиотер 2001; 46: 11: 7—10.
- Бабицкая В. Г. Грибы — эффективные деструкторы лигноцеллюлозных субстратов: их морфологическая и физиолого-биохимическая характеристика. Микология и фитопатология 1993; 27: вып. 5: 38—44.
- Низовская О. П. Антибиотические свойства высших базидиальных грибов// Биосинтетическая деятельность высших грибов. Л.: Наука, 1969; 60—100.
- Бондарцева М. А. Определитель грибов России. Порядок Афиллофоровые. СПб: Наука, 1998; 2: 391.
- Шариков А. М., Ооржак У. С., Перьянова О. В., Ушанова В. М., Нещумаев Д. А. Бактерицидная активность метаболитов гриба *Fomitopsis officinalis* в отношении условно-патогенных бактерий. Грибы в природных и антропогенных системах. Труды международной конференции. СПб.: 2005: 2: 304—307.

9. *Квосьев П. А.* Полный справочник лекарственных растений. М.: Наука, 2002; 992.
10. *Белова Н. В.* Базидиомицеты — источники биологически активных веществ. Растит ресурс 1991; 27: 2: 8—17.
11. *Мухин В. А., Хлебицкий А., Ушакова Н. В.* Современная структура и историческая динамика ареала *Fomitopsis officinalis*. Современная микология в России, 2002; 113—114.
12. *Сидоренко М. Л.* Оптимизация среды для глубинного культивирования мицелия *Fomitopsis officinalis*. Успехи мед микол 2006; 7: 304—306.
13. *Сидоренко М. Л.* Лиственничная губка в культуре. Современные методы научных исследований: материалы I Дальневосточной междисциплинарной молодежной научной конференции. Владивосток. 2011; 55.
14. *Сидоренко М. Л.* Питательная среда для культивирования базидиальных грибов. Патент РФ. № 2322795. 2008.
15. *Милова Н. М., Низовская О. П.* Сравнительно-физиологическая характеристика грибов из порядков Афиллофоровые и агарико-вые в культуре. М.: Наука, 1965; 6—11.