

УДК 61  
DOI: 10.30914/M27

**Д. В. Квашина, Ж. В. Боева, А. А. Бурашникова,  
И. Ю. Широкова, Н. А. Белянина, О. В. Ковалишена**

*Приволжский исследовательский медицинский университет,  
Российская Федерация, Нижний Новгород*

**ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ  
ВОДОРАСТВОРИМЫХ НЕСИММЕТРИЧНЫХ КАТИОННЫХ ПОРФИРИНОВ  
В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO***

**АННОТАЦИЯ.** Актуальность. Преодоление проблемы антибиотикорезистентности является одним из наиболее актуальных вызовов современной медицины, что делает поиск альтернативных методов борьбы с ней приоритетной научной задачей.

**Цель:** изучение бактерицидной активности водорастворимых несимметричных катионных порфиринов по отношению к госпитальным штаммам микроорганизмов в планктонной и биопленочной формах в эксперименте *in vitro*.

**Материалы и методы.** В качестве фотосенсибилизаторов были выбраны три соединения водорастворимых несимметрично замещенных порфиринов, содержащих на периферии порфиринового цикла гетероциклические фрагменты (остатки бензоксазола, N-метилбензимидазола и бензотиазола). Видовая структура выборки микроорганизмов, выделенных от пациентов с инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи (ИСМП): *S. aureus* ( $n = 48$ ; 46,6 %), *S. epidermidis* ( $n = 22$ ; 21,4 %), *S. haemolyticus* ( $n = 12$ ; 11,7 %), *S. hominis* ( $n = 8$ ; 7,8 %), *S. warneri* ( $n = 4$ ; 3,9 %), *E. faecium* ( $n = 3$ ; 2,9 %), *P. aeruginosa* ( $n = 3$ ; 2,9 %), *E. coli* ( $n = 3$ ; 2,9 %); биопленки тест-культур ( $n = 23$ ), выращенные из изолятов от пациентов с гнойно-септическими инфекциями (*S. aureus* ( $n = 14$ ; 70,0 %), *S. epidermidis* ( $n = 6$ ; 30,0 %)).

**Результаты и обсуждение.** Для 90,29 % госпитальных штаммов ( $n = 93$ ; 95 % ДИ 65,5–97,5) все три тестируемых фотосенсибилизатора обеспечили полный лизис («++++») культур уже после 10 минут облучения. Для девяти антибиотикорезистентных госпитальных штаммов стафилококков с низким и средним коэффициентом биопленкообразования порфирины проявили значимую активность (Ме показателя активности 0,603 (Q2 – Q3 0,481–0,669)).

**Выводы.** Выявлено наличие высокого уровня бактерицидной активности в отношении антибиотикорезистентных госпитальных штаммов грамположительных бактерий в планктонной форме у изучаемых соединений. В отношении госпитальных штаммов в биопленочной форме с низким и средним коэффициентом биопленкообразования порфирины проявили значимую активность.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** антибиотикорезистентность, фотодинамическая инактивация, водорастворимые порфирины, фотохимия.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-75-01087, <https://rscf.ru/project/23-75-01087/>.*

**D. V. Kvashnina, J. V. Boeva, A. A. Burashnikova,  
I. Y. Shirokova, N. A. Belyanina, O. V. Kovalishena**

*Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation*

**INVESTIGATION OF THE BACTERICIDAL ACTIVITY  
OF WATER-SOLUBLE ASYMMETRIC CATIONIC PORPHYRINS  
IN AN *IN VITRO* EXPERIMENT**

**ABSTRACT.** Relevance. Overcoming antibiotic resistance is one of the pressing challenges of modern medicine, which makes the search for alternative methods to combat it a priority scientific task.

**Aim.** Study of the bactericidal activity of water-soluble asymmetric cationic porphyrins against hospital strains of microorganisms in planktonic and biofilm forms *in vitro*.

**Materials and methods.** Three water-soluble asymmetrically substituted porphyrin compounds containing heterocyclic fragments (residues of benzoxazole, N-methylbenzimidazole, and benzothiazole) at the periphery of the porphyrin ring were chosen as photosensitizers. The species structure of the sample of microorganisms isolated from patients with healthcare-associated infections (HAIs) included: *S. aureus* ( $n = 48$ ; 46,6 %), *S. epidermidis* ( $n = 22$ ; 21,4 %), *S. haemolyticus* ( $n = 12$ ; 11,7 %), *S. hominis* ( $n = 8$ ; 7,8 %), *S. warneri* ( $n = 4$ ; 3,9 %), *E. faecium* ( $n = 3$ ; 2,9 %), *P. aeruginosa* ( $n = 3$ ; 2,9 %), *E. coli* ( $n = 3$ ; 2,9 %); biofilms of test cultures ( $n = 23$ ) grown from isolates from patients with purulent-septic infections (*S. aureus* ( $n = 14$ ; 70,0 %), *S. epidermidis* ( $n = 6$ ; 30,0 %)).

Results. For 90.29 % of hospital strains ( $n = 93$ ; 95 % CI 65.5–97.5), all three tested photosensitizers achieved complete lysis (“++++”) of cultures after just 10 minutes of irradiation.

For nine antibiotic-resistant hospital strains of staphylococci with low and medium biofilm formation coefficients, porphyrins exhibited significant activity (median activity index 0.603 (Q2 – Q3 0.481–0.669).

Conclusions. A high level of bactericidal activity against antibiotic-resistant hospital strains of Gram-positive bacteria in planktonic form was identified for the studied compounds. In relation to hospital strains in biofilm form with low and medium biofilm formation coefficients, porphyrins exhibited significant activity.

KEYWORDS: antibiotic resistance, photodynamic inactivation, water-soluble porphyrin, photochemistry.

The research was carried out at the expense of a grant from the Russian Science Foundation No. 23-75-01087, <https://rscf.ru/project/23-75-01087/>.

Актуальность. Преодоление проблемы антибиотикорезистентности является одним из наиболее актуальных вызовов современной медицины. Важность поиска альтернативных методов борьбы с антибиотикорезистентностью становится приоритетной научной задачей.

Фотодинамическая инактивация представляет собой фотохимическую реакцию с молекулами нетоксичного красителя или фотосенсибилизатора в присутствии низкоинтенсивного видимого света с выделением активных форм кислорода, приводящих к гибели микробных клеток [1].

Цель работы: изучение бактерицидной активности водорастворимых несимметричных катионных порфиринов по отношению к госпитальным штаммам микроорганизмов в планктонной и биопленочной формах в эксперименте *in vitro*.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования проводились на базе бактериологической лаборатории Университетской клиники ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России.

Исследуемые химические соединения представляют собой три разных соединения водорастворимых несимметричных катионных порфиринов и были синтезированы группой исследователей Института химии растворов имени Г. А. Крестова Российской академии наук (г. Иваново) с использованием метода C—H-активации [2]: 1) триодид 5-[4'-(1'',3''-бензотиазол-2''-ил)фенил]-10,15,20-трис(*N*-метилпиридин-3'-ил) порфирина (S-por); 2) триодид 5-[4'-(1'',3''-бензоксазол-2''-ил)фенил]-10,15,20-трис(*N*-метилпиридин-3'-ил) порфирина (O-por); 3) триодид 5-[4-(*N*-метил-1'',3''-бензимидазол-2''-ил)фенил]-10,15,20-трис(*N*-метил-пиридин-3'-ил)-порфирина (N-por).

Исследуемые микроорганизмы: клинические изоляты от пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями и штаммы из окружающей среды отделений медицинской организации: *S. aureus* ( $n = 48$ ; 46,6 %), *S. epidermidis* ( $n = 22$ ; 21,4 %), *S. haemolyticus* ( $n = 12$ ; 11,7 %), *S. hominis* ( $n = 8$ ; 7,8 %), *S. warneri* ( $n = 4$ ; 3,9 %), *E. faecium* ( $n = 3$ ; 2,9 %), *P. aeruginosa* ( $n = 3$ ; 2,9 %), *E. coli* ( $n = 3$ ; 2,9 %); биопленки тест-культур ( $n = 23$ ), выращенные из изолятов от пациентов с гнойно-септическими инфекциями (*S. aureus* ( $n = 14$ ; 70,0 %), *S. epidermidis* ( $n = 6$ ; 30,0 %).

Характеристика источника света: светодиодная LEG лампа мощностью 20 Вт. Время фотооблучения (экспозиции): 10, 15, 30, 60 минут. Расстояние от источника света до поверхности облучаемого объекта — 22 см.

Для оценки бактерицидной активности порфиринов в отношении планктонных форм использовалась методика определения спектра литической активности бактериофагов (методика «лизисного пятна», где «–» — нет литической активности, «+» — низкая активность и т. д. до «++++») — прозрачная зона лизиса без колоний вторичного роста [3; 4].

Влияние порфирина на процесс деструкции биопленки определялось как отношение оптической плотности биопленки, подвергшейся влиянию порфирина, к оптической плотности биопленки культуры, не подвергавшейся влиянию порфирина. Интерпретация полученного отношения: <0,5 — порфирин разрушает биопленку; от 0,5 до 0,7 — порфирин слабо разрушает биопленку; от 0,7 и выше — порфирин не разрушает биопленку.

Результаты и их обсуждение. При изучении бактерицидной активности порфиринов в отношении госпитальных штаммов в планктонной форме получены следующие результаты: для 90,29 % госпитальных штаммов ( $n = 93$ ; 95 % ДИ 65,5–97,5) все три тестируемых фотосенсибилизатора обеспечили полный лизис («++++») культур уже после 10 минут облучения. К 9,7 % штаммов ( $n = 10$ ; 95 % ДИ 3,6–38,2) порфирины не проявили бактерицидной активности («–») или проявили низкую активность («+», «++»); в этой группе «нечувствительных/малочувствительных» штаммов 60,0 % составили грамотрицательные микроорганизмы *P. aeruginosa*, *E. coli* и 40,0 % ( $n = 4$ ) — грамположительные штаммы, три из которых были выделены из внешней среды. При характеристике штаммов отмечается, что 95,60 % клинических штаммов от пациентов были эффективно лизированы тестируемыми порфиринами (на «++++»). Не были лизированы всеми тестируемыми порфиринами четыре клинических штамма грамотрицательных микроорганизмов.

Среди изучаемых соединений меньшую литическую активность проявил моногетерилзамещенный порфирин, содержащий остатки *N*-метил-

бензимидазола (N-rog) — к нему были устойчивы три штамма стафилококка из внешней среды без динамики эффекта со временем облучения.

В эксперименте не зафиксировано факта полной нечувствительности какого-либо грамположительного микроорганизма одновременно ко всем трем соединениям.

При изучении бактерицидной активности порфиринов в отношении штаммов с разным коэффициентом биопленкообразования (21,7 % штаммов характеризовались умеренной и высокой способностью к образованию биопленок) было выявлено, что соединения порфиринов проявляли разный уровень активности: так, медиана показателя активности для O-rog составила 0,785 (Q2 – Q3 0,752–0,856), для S-rog — 0,784 (Q2 – Q3 0,604–0,890), для N-rog — 0,703 (Q2 – Q3 0,623–0,859). Активность порфиринов S-rog и N-rog варьировала от слабого ингибирования (разрушения) биопленки до отсутствия эффекта. Для девяти антибиотикорезистентных госпитальных штаммов стафилококков с низким и средним коэффициентом биопленкообразования порфирины проявили значимую активность (Me показателя активности 0,603 (Q2 – Q3 0,481–0,669).



**Заключение.** Выявлено, что порфирины проявляют высокий уровень бактерицидной активности в отношении антибиотикорезистентных госпитальных штаммов грамположительных бактерий в планктонной форме. Высокий уровень бактерицидной активности («+++», «++++») в отношении грамположительных микроорганизмов был определен для S-rog порфирина — в 100 % случаев, O-rog — в 98,96 %, для N-rog — в 95,8 %. Для грамотрицательных штаммов госпитальной выборки было определено отсутствие бактерицидной активности.

В отношении госпитальных штаммов в биопленочной форме с низким и средним коэффициентом биопленкообразования порфирины проявили значимую активность.

Таким образом, в эксперименте *in vitro* была изучена и оценена бактерицидная активность тетрациклин-макролид-тетрациклин-макролид-тетрациклин (порфиринов) в отношении госпитальных штаммов микроорганизмов с разным уровнем резистентности к антибиотикам в планктонной и биопленочной формах и определена возможность их применения как противомикробных лекарственных средств.

1. Photodynamic therapy for infections: clinical applications / G. B. Kharkwal, S. K. Sharma, Y. Y. Huang, T. Dai, M. R. Hamblin // *Lasers Surg Med.* 2011. Vol. 43, no. 7. Pp. 755–767. DOI: 10.1002/lsm.21080

2. Синтез и исследование водорастворимых несимметричных катионных порфиринов как потенциальных фотоинактиваторов патогенов / А. Н. Киселев, М. А. Лебедев, С. А. Сырбу [и др.]. // *Известия Академии наук. Серия химическая.* 2022. Т. 71, № 12. С. 2691–2700 // EDN VXSHNN.

3. Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике : методические рекомендации / Б. И. Асланов, Л. П. Зуева, О. Е. Пунченко [и др.]. Москва, 2022. 32 с.

4. Фотодинамическая инактивация как перспективный метод борьбы с резистентными штаммами стафилококков / Д. В. Квашнина, И. Ю. Широкова, Н. А. Белянина, О. В. Ковалишена, С. А. Сырбу, Н. Ш. Лебедева // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2024. Т. 23, № 3. С. 19–26. DOI:10.31631/2073-3046-2024-23-3-19-26

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ОБ АВТОРАХ

**Квашнина Дарья Валерьевна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины Приволжского исследовательского медицинского университета Минздрава России, 603055, Российская Федерация, г. Нижний Новгород.

**Боева Жанна Валерьевна**, студентка 6 курса медико-профилактического факультета, лаборант научно-исследовательского отдела Приволжского исследовательского медицинского университета Минздрава России, 603055, Российская Федерация, г. Нижний Новгород.

**Бурашикова Анастасия Александровна**, студентка 5 курса медико-профилактического факультета, лаборант научно-исследовательского отдела Приволжского исследовательского медицинского университета Минздрава России, 603055, Российская Федерация, г. Нижний Новгород.

**Широкова Ирина Юрьевна**, кандидат медицинских наук, врач-бактериолог, заведующая бактериологической лабораторией Университетской клиники Приволжского исследовательского медицинского университета Минздрава России, 603055, Российская Федерация, г. Нижний Новгород.

**Белянина Наталья Александровна**, биолог бактериологической лаборатории Университетской клиники Приволжского исследовательского медицинского университета Минздрава России, 603055, Российская Федерация, г. Нижний Новгород.

**Ковалишена Ольга Васильевна**, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины Приволжского исследовательского медицинского университета Минздрава России, 603055, Российская Федерация, г. Нижний Новгород.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ: Квашнина Дарья Валерьевна, e-mail: daria\_tsariova@mail.ru

Для цитирования:

Квашнина Д. В., Боева Ж. В., Бурашникова А. А., Широкова И. Ю., Белянина Н. А., Ковалишена О. В. Изучение бактерицидной активности водорастворимых несимметричных катионных порфиринов в эксперименте in vitro // Вопросы клинической и фундаментальной медицины. 2024. Т. 1, № 4 (4). С. 24–27. DOI: <https://doi.org/10.30914/M27>



1. Kharkwal G., Sharma S., Huang Y., et al. Photodynamic therapy for infections: clinical applications. *Lasers Surg Med*, 2011, vol. 43, no. 7, pp. 755–67. (In Eng.). DOI: 10.1002/lsm.21080

2. Kiselev A. N., Lebedev M. A., Syrбу S. A., et al. Sintez i issledovaniye vodorastvorimyykh nesimmetrichnykh kationnykh porfirinov kak potentsial'nykh fotoinaktivatorov patogenov. *Izvestiya Akademii nauk. Seriya khimicheskaya* = Proceedings of the Academy of Sciences. Chemical series, 2022, vol. 71, no. 12, pp. 2691–2700. (In Russ.).

3. Aslanov B. I., Zuyeva L. P., Punchenko O. Ye., et al. Ratsional'noye primeneniye bakteriofagov v lechbenoy i protivoepidemicheskoy praktike : Metodicheskiye rekomendatsii. Moskva, 2022, 32 p. (In Russ.).

4. Kvashnina D. V., Shirokova I. Yu., Belyanina N. A., Ivanova O. V., Stifeev N. V., Kovalishena O. V., Syrбу S. A., Lebedeva N. Sh. Photodynamic Inactivation as a Promising Method of Combating Resistant Strains of Staphylococci. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2024, vol. 23, no. 3, pp. 19–26. (In Russ.). Available at: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-3-19-26>

The authors declare no conflict of interest.

ABOUT THE AUTHORS

**Kvashnina Darya Valerievna**, Ph. D. (Medical), Associate Professor of the Department of Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based of the Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation.

**Boeva Jeanne Valerievna**, 6<sup>th</sup> Year Student of Medical Preventive Faculty, Laboratory Assistant of the Research Department of the Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation.

**Burashnikova Anastasia Aleksandrovna**, 5<sup>th</sup> Year Student of Medical Preventive Faculty, Laboratory Assistant of the Research Department of the Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation.

**Shirokova Irina Yuryevna**, Ph. D. (Medical), Head of the Bacteriological laboratory, Bacteriologist of the Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation.

**Belyanina Natalya Aleksandrovna**, Biologist of the Bacteriological Laboratory of the University Clinic of the Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia.

**Kovalishena Olga Vasilevna**, Dr. Sci. (Medical), Head of the Department of Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine of the Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation.

ADDRESS FOR CORRESPONDENCE: Kvashnina D. V., e-mail: [daria\\_tsariova@mail.ru](mailto:daria_tsariova@mail.ru)

FOR CITATION:

Kvashnina D. V., Boeva J. V., Burashnikova A. A., I. Y. Shirokov, Belyanina N. A., Kovalishena O. V. Investigation of the Bactericidal Activity of Water-Soluble Asymmetric Cationic Porphyrins in an In Vitro Experiment. *Issues of Clinical and Fundamental Medicine*, 2024, vol. 1, no. 4, pp. 24–27. DOI: <https://doi.org/10.30914/M27>