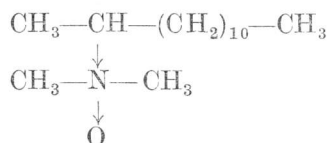


Inhibícia rastu a metabolizmu mikroorganizmov *N, N*-dimetyl-1-metyldodecylamínoxidom

J. ŠUBÍK — G. TAKÁČOVÁ

Nedávno sme študovali antimikróbnu aktivitu, spôsob biochemického účinku, ako aj koreláciu biologickej aktivity s chemickou štruktúrou série laboratórne pripravených nasýtených heterocyklických *N*-alkyl amínoxidov odvodených od pyrrolidínu, piperidínu, perhydroazepínu a morfolínu [1—3]. V priebehu tohto výskumu pripravili na Farmaceutickej fakulte Univerzity Komenského i *N, N*-dimetyl-1-metyldodecylamínoxid [4]



zlúčeninu predstavujúcu štruktúrnou obmenu antimikróbne aktívneho 2-aminotridekanu [5]. Uvedený amínoxid sa od 2-aminotridekanu výrazne líši podstatne vyššou rozpustnosťou vo vode, pričom jeho akútna toxicita je niekoľkonásobne nižšia [4].

Táto práca demonštruje antimikróbnu aktivitu *N, N*-dimetyl-1-metyldodecylamínoxidu a spôsob jeho účinku, ktorý zrejme spočíva v zmene organizácie a funkcie bunkových membránových štruktúr.

Materiál a metódy

Z mikroorganizmov sa použili baktérie uvedené v tab. 1, kmene vláknitých húb uvedené v tab. 2 a kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* HANSEN DTXII. Pôvod mikroorganizmov a niektoré ich vlastnosti uvádzajú predchádzajúce práce [6—8]. Metódy kultivácie mikroorganizmov, určenie antimikróbnej a cytolytickej aktivity amínoxidu, ako aj použité biochemické metódy opisujú práce [1—3]. Hemolytickú aktivitu demonštroval postup opísaný v práci [9].

N, N-dimetyl-1-metyldodecylamín-*N*-oxid pripravil Ing. F. Devínsky (FaFUK, Bratislava). Ostatné chemikálie použité v práci boli výrobky n. p. Lachema, Brno.

Tabuľka 1. Inhibícia rastu baktérií *N,N*-dimetyl-1-metyldodecylaminoxidom (300 µg) po 72 hodinách rastu pri 37 °C

Mikroorganizmus	Priemer zóny inhibície (mm)
<i>Bacillus cereus</i>	16
<i>Bacillus subtilis</i>	13
<i>Streptococcus faecalis</i>	28
<i>Leucomostoc mesenteroides</i>	14
<i>Escherichia coli</i>	16
<i>Proteus vulgaris</i>	13
<i>Salmonella typhimurium</i>	15

Tabuľka 2. Inhibícia rastu vláknitých húb *N,N*-dimetyl-1-metyldodecylaminoxidom (300 µg) po dvoch týždňoch rastu pri 30 °C

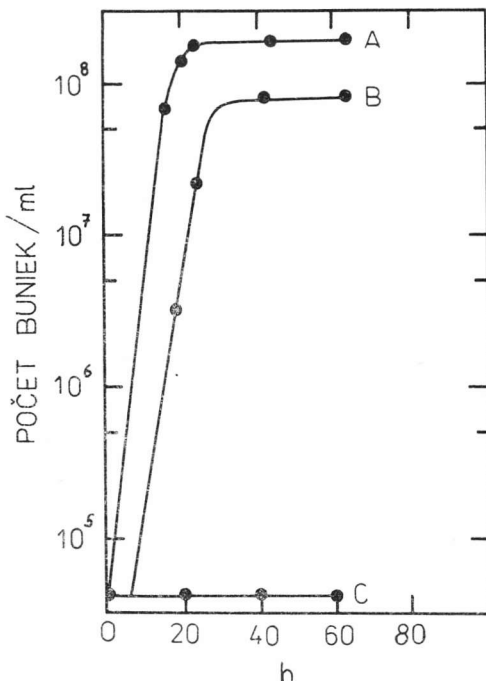
Mikroorganizmus	Priemer zóny inhibície (mm)
<i>Aspergillus niger</i>	5
<i>Aspergillus oryzae</i>	13
<i>Botrytis cinerea</i>	20
<i>Mucor mucedo</i>	13
<i>Mucor racemosus</i>	9
<i>Neurospora crassa</i>	10
<i>Paecilomyces varioti</i>	8
<i>Penicillium roquefo ti</i>	11
<i>Penicillium cyclopium</i>	10
<i>Penicillium bravi-compactum</i>	11
<i>Rhizopus nigricans</i>	8
<i>Rhizopus oryzae</i>	7

Výsledky a diskusia

Tabuľka 1 demonštruje antimikrobiálnu aktivitu *N,N*-dimetyl-1-metyldodecylaminoxidu. Pridanie aminoxidu na povrch agarového média obsahujúceho vegetatívne bunky (10^7 buniek/Petriho miska) testovaných baktérií malo za následok inhibíciu rastu grampozitívnych i gramnegatívnych baktérií. Vo všetkých prípadoch sa inhibícia rastu buniek prejavila hladkou a priesvitnou zónou inhibície. Z testovaných baktérií boli grampozitívne bunky *Streptococcus faecalis* na inhibičný účinok aminoxidu najcitlivejšie. Pri inkubácii v tekutých médiách 0,5 mM koncentrácia *N,N*-dimetyl-1-metyldodecylaminoxidu úplne inhibovala rast všetkých testovaných baktérií.

Tabuľka 2 demonštruje antifugálnu aktivitu *N,N*-dimetyl-1-metyldodecylaminoxidu. Amínoxid pridaný na povrch pevného Sabouraudovho média obsahujúceho spóry (10^6 spór/ml) vláknitých húb inhiboval klíčenie spór i rast všetkých testovaných plesní. Najcitlivejšie na inhibičný účinok *N,N*-dimetyl-1-metyldodecylaminoxidu boli bunky *Botrytis cinerea*.

Na inhibičný účinok *N,N*-dimetyl-1-metyldodecylaminoxidu boli citlivé i kvasinky *S. cerevisiae* (obr. 1). Už 0,3 mM koncentrácia amínoksidu úplne inhibovala rast kvasiniek (začiatočná koncentrácia 4×10^4 buniek/ml) v tekutom glukózovom médiu. Nižšie koncentrácie (0,1 a 0,2 mM) amínoksidu v dôsledku úhynu frakcie inokulovaných buniek spôsobili iba predĺženie času potrebného na dosiahnutie stacionárnej fázy rastu, v ktorej rastový výťažok v porovnaní s kontrolou bol mierne redukovaný. Účinok vyšších koncentrácií amínoksidu bol pre bunky kvasiniek letálny. V prítomnosti 4 mM amínoksidu bunky kvasiniek neboli schopné oxidovať ani glukózu a ich glykolytická aktivita bola úplne potlačená.

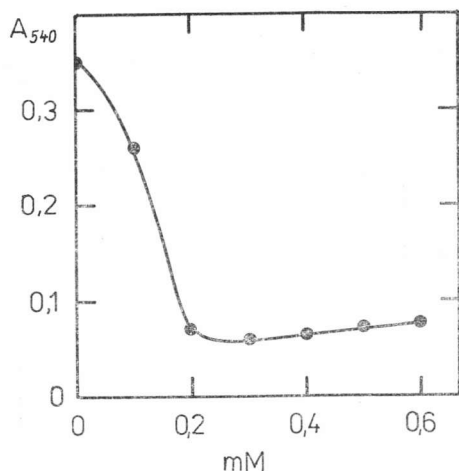


Obr. 1. Vplyv *N,N*-dimetyl-1-metyldodecylaminoxidu na rast kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae*. Bunky kvasiniek rástli v semisyntetickom médiu obsahujúcom 0,5 % glukózu, 0,5 % pepton, 0,5 % kvasničný extrakt, anorganické soli (2) a amínoksid. Rast sa sledoval počítaním buniek v Bürkerovej komôrke. A — bez amínoksidu, B — 0,1 mM amínoksid, C — 0,3 mM amínoksid.

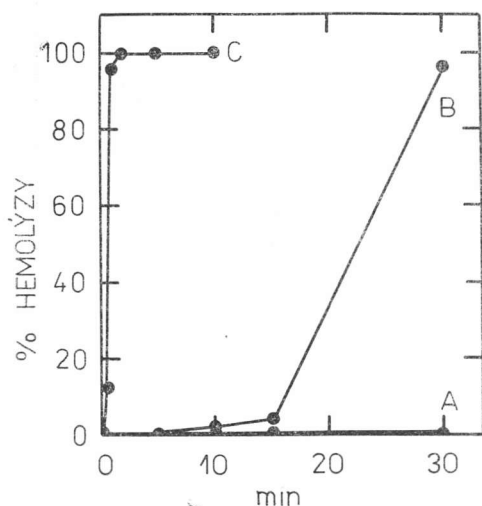
Analogicky s amínoksidmi odvodenými od *N*-alkyl-morfolínu, *N*-alkyl-pyrrolidínu, *N*-alkyl-piperidínu a perhydroazepínu [1—3] i *N,N*-dimetyl-1-metyldodecylamínoksid indukoval lýzu osmoticky stabilizovaných membrán protoplastov kvasiniek *S. cerevisiae* (obr. 2), ako aj cytoplazmatických membrán ľudských erytrocytov (obr. 3). Cytolytická a hemolytická aktivita *N,N*-dimetyl-1-metyldodecylamínoksidu sa pozorovala v koncentráciách, ktoré sa dajú porovnať s koncentraciami amínoksidu úplne inhibujúcimi rast vegetatívnych buniek mikroorganizmov v tekutých médiách.

Výsledky práce demonštrujú antimikróbnú a cytolytickú aktivitu *N,N*-dimetyl-1-metyldodecylamínoksidu. Antimikróbná aktivita tohto amínoksidu sa vcelku dá porovnať s 2-aminotridekanom [5, 10—12] ale z hľadiska priemyselného využitia výhodnejšou sa javí nižšia toxicita a vyššia rozpustnosť

N,N-dimetyl-1-metyldodecylamínoxidu vo vode [4]. Získané výsledky sú v súlade s predstavou, že spôsob účinku *N,N*-dimetyl-1-metyldodecylamínoxidu spočíva v zmene organizácie a funkcie bunkových membránových štruktúr.



Obr. 2. *N,N*-dimetyl-1-metyldodecylamínoxidom indukovaná lýza protoplastov kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae*. Lýza sa sledovala poklesom absorpcie suspenzie protoplastov pri 540 nm v médiu obsahujúcom 1,35 M sorbitol, 1 mM EDTA, 50×10^6 protoplastov/ml a amínoxid. Konečné pH bolo 7,0, reakčný čas 10 min a teplota inkubácie 25 °C.



Obr. 3. Vplyv inkubačného času a koncentrácie *N,N*-dimetyl-1-metyldodecylamínoxidu na hemolýzu ľudských erytrocytov. Inkubačná zmes pri 37 °C obsahovala 0,154 M NaCl, 10 mM Tris-HCl, 40×10^6 erytrocytov/ml a amínoxid, konečné pH 7,45. Stupeň hemolýzy sa určil na základe spektrofotometricky stanoveného množstva hemoglobínu uvoľneného do supernatantu po 2 minútovej centrifugácii reakčnej zmesi pri 1000 g. A — bez amínoxidu, B — 0,3 mM amínoxid, C — 1,0 mM amínoxid.

Súhrn

N,N-dimetyl-1-metyldodecylamínoxid v relatívne nízkych koncentráciách inhiboval rast viacerých kmeňov baktérií, kvasiniek a vláknitých húb. V tom istom koncentračnom rozmedzí amínoxid indukoval lýzu osmoticky stabilizo-

vaných protoplastov *S. cerevisiae* a ľudských erytrocytov. Výsledky indikujú, že podstata biochemického účinku *N,N*-dimetyl-1-metyldodecylaminoxidu spočíva v zmene organizácie a funkcie membránových štruktúr buniek.

Literatúra

1. ŠUBÍK, J. — LEŠKOVÁ, Z. — TAKÁČSOVÁ, G. — DUDÍKOVÁ, E.: Výskum biochemického účinku antimikróbnych látok. Záverečná správa P11-529-264/02-1. Bratislava, VÚP 1977.
2. ŠUBÍK, J. — TAKÁČSOVÁ, G. — PŠENÁK, M. — DEVÍNSKY, F.: Antimicrob. Agents Chemother., 12, 1977, s. 139.
3. ŠUBÍK, J. — TAKÁČSOVÁ, G.: Bull. VÚP, XVIII, 1979, č. 2, 1979, s. 9.
4. DEVÍNSKY, F. — LACKO, I.: v príprave.
5. WEICHET, J. — BLÁHA, L. — LEINER, J. — STŘÍBRNÝ, J. — ŠIMEK, A. — ČAPEK, A. — TURINOVÁ, J.: Čs. patent 131 759/1969.
6. ŠUBÍK, J. — BEHŮŇ, M.: Arch. Microbiol., 97, 1974, s. 81.
7. ŠUBÍK, J. — BEHŮŇ, M.: Poľnohospodárstvo, 22, 1976, s. 181.
8. ŠUBÍK, J. — BEHŮŇ, M. — ŠMIGÁŇ, P. — MUSÍLEK, V.: Biochim. biophys. Acta, 343, 1974, s. 363.
9. TAKÁČSOVÁ, G. — ŠUBÍK, J.: Experientia, 33, 1977, s. 1415.
10. ŠIMEK, A. — ČAPEK, A. — TURINOVÁ, J. — WEICHET, J. — LEINER, J.: Folia microbiol., 14, 1969, s. 508.
11. ČAPEK, A. — ŠIMEK, A. — LEINER, J. — WEICHET, J.: Folia microbiol., 15, 1970, s. 314.
12. ČAPEK, A. — ŠIMEK, A. — LEINER, J. — WEICHET, J.: Folia microbiol., 18, 1973, s. 142.

Шубик, Й., Такачева, Г.

Ингибирование роста и метаболизма микроорганизмов *N*, *N*-диметил-1-метилдодecil-аминоокислом

Выводы

N,N-диметил-1-метилдодecilамино-*N*-окисел в относительно низких концентрациях ингибировал рост нескольких штаммов бактерий, дрожжей и волокнистых грибов. В том же пределе концентраций аминокисел индуцировал лизу осмотически стабилизированных протопластов *S. cerevisiae* и человеческих эритроцитов. Результаты определяют, что сущность биохимического действия *N,N*-диметил-1-метилдодecilамино-*N*-окиселя состоит в изменении организации и функции мембранных структур клеток.

Šubík, J., Takácsová, G.

Inhibition of the growth and metabolism of microorganisms by *N,N*-dimethyl-1-metyldodecylamine-*N*-oxide

Summary

N,N-dimethyl-1-metyldodecylamine-*N*-oxide inhibited the growth of several species of bacteria, yeasts and filamentous fungi. At the same concentration range the amine oxide induced the lysis of osmotically stabilized protoplasts of *Saccharomyces cerevisiae* and human red blood cells. The results indicate that the basis of the biochemical action of *N,N*-dimethyl-1-metyldodecylamine-*N*-oxide consists in a change in the organization and function of the cellular membrane structures.