

DOI: 10.15593/2224-9400/2018.4.05

УДК 579.61

И.А. ПьянковПермский национальный исследовательский
политехнический университет, Пермь, Россия**Л.И. Кононова, В.П. Коробов**Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН,
Пермь, Россия**А.А. Смоляк, Ю.В. Шкляев**Институт технической химии УрО РАН,
Пермь, Россия**ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ЭФФЕКТА
КОМБИНАЦИЙ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ КАТИОННЫХ
ПЕПТИДОВ И НОВОГО СОЕДИНЕНИЯ «СА»
НА ОСНОВЕ ИЗОХИНОЛИНА**

Коагулазонегативные стафилококки (КНС), являясь частью обычной микробиоты человека и животных, часто служат причиной заболеваний, возникающих при нарушении защитных систем организма хозяина, как следствие вирусных инфекций, а также неадекватной антибактериальной терапии. Известно, что бактерии этого рода могут обладать выраженной способностью адаптироваться к антибиотическим соединениям. Многие виды стафилококков способны также к образованию биопленок, например, на медицинских имплантах, вследствие чего происходит инфицирование пациентов.

Широкое распространение полирезистентных штаммов патогенных микроорганизмов сопровождается снижением эффективности традиционной антибиотикотерапии. В этой ситуации на передний план исследований выходит разработка новых антибактериальных препаратов и создание новых методов подавления штаммов с множественной устойчивостью к антибиотикам.

*В статье представлены результаты изучения антибактериальной активности нового химического соединения «СА» – ((2,3,5,6-тетрагидрооксазоло[2,3-а]изохинолин-4-ил-2-ил)метил)ртуть(II)хлорида, синтезированного на основе алкалоида изохинолина, ингибирующего развитие полирезистентных коагулазонегативных стафилококков. Показан одинаковый уровень чувствительности к этому препарату планктонных культур родительского и селекционированного, обладающего высоким уровнем устойчивости к ванкомицину, штаммов клинических стафилококков. Методом «шахматной доски» выявлены эффективные комбинации препарата «СА» с другими антибактериальными соединениями, ингибирующими рост бактерий исследованных штаммов. В системе *in vitro* комбинации «СА» с низкомолекулярными катионными пептидами варнерином и хоминином, а также ванкомицином, хлорам-*

фениколом и даптомицином против исследованных штаммов в основном носили индифферентный характер, а в сочетании с рифампицином проявлялось антагонистическое действие.

Ключевые слова: *стафилококки, ванкомицин, варнерин, хоминин, изохинолин, синергизм.*

I.A. Pyankov

Perm National Research Polytechnic University,
Perm, Russian Federation

L.I. Kononova, V.P. Korobov

Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms UrB RAS,
Perm, Russian Federation

A.A. Smolyak, Yu.V. Shklyayev

Institute of Technical Chemistry UrB RAS,
Perm, Russian Federation

THE STUDY OF ANTIBACTERIAL EFFECT OF COMBINATIONS OF LOW MOLECULAR WEIGHT CATIONIC PEPTIDES WITH NEW «CA» COMPOUND BASED ON ISOQUINOLINE

Coagulase-negative staphylococci (KNS) are part of the usual microbiota of humans and animals, they often cause diseases that occur due to penetration of the host's protective systems because of viral infections, as well as inadequate antibiotic therapy. It is known that bacteria of this genus can have a pronounced ability to adapt to antibiotic compounds. Many species of staphylococci are also capable of biofilm formation, for example, on medical implants, that causes the infection of patients.

The widespread of polyresistant strains of pathogenic microorganisms is accompanied by a decrease in the effectiveness of traditional antibiotic therapy. In this situation, the development of new antibacterial drugs and the creation of new methods of suppression of strains with multiple antibiotic resistance comes to the fore.

This article presents the results of studying the antibacterial activity of the new chemical compound «CA» – ((2,3,5,6-tetrahydrooxazolo[2,3-a]isoquinoline-4-eum-2 el)methyl)mercury (II)chloride) which was synthesized on the basis of the isoquinoline alkaloid inhibiting the development of polyresistant coagulase-negative staphylococci. The same level of sensitivity to this drug of planktonic cultures of parent and selected resistance vancomycin of clinical staphylococci have shown. Effective combinations of the «CA» with other antibacterial compounds inhibiting the growth of bacteria studied strains were revealed by the chessboard method. In vitro, the combination of «CA» with low-molecular weight cation peptides warnerin and hominin, as well as vancomycin, chloramphenicol and daptomycin for strains studied was predominantly indifferent, but in combination with rifampicin an antagonistic effect was observed.

Keywords: *staphylococci, vancomycin, warnerin, hominin, isoquinoline, synergy.*

Быстрое развитие резистентности бактерий к антибиотикам является серьезной глобальной проблемой, определяющей необходимость поиска новых антибиотиков, а также разработки новых подходов к решению этой проблемы [1]. Именно поэтому весьма перспективным является использование химических модификаций уже известных антибактериальных препаратов. С учетом этого в данной работе был использован химически синтезированный препарат из ряда алкалоидных производных.

Возможность осуществления химической трансформации природных алкалоидов, а также синтез ранее неизвестных производных на основе гетероциклов изохинолина привлекает постоянное внимание как синтетиков и биологов [2] ввиду возможностей получения продуктов синтеза с разнообразной биологической активностью.

В результате использования нескольких этапов превращения изохинолина по методике, разработанной в Институте технической химии УрО РАН, был получен препарат «СА» – ((2,3,5,6-тетрагидрооксазоло[2,3-а]изохинолин-4-иум-2-ил)метил)ртуть(II)хлорид (рис. 1), обладающий широким спектром антибактериального действия.

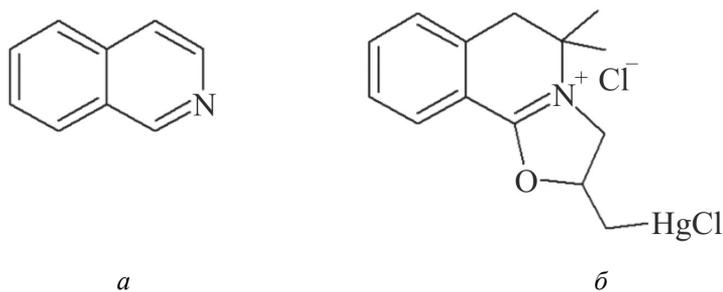


Рис. 1. Структурные формулы изохинолина (а) и ((2,3,5,6-тетрагидрооксазоло[2,3-а]изохинолин-4-иум-2-ил)метил)ртуть(II)хлорида (б)

Известно, что для увеличения активности антибактериальных соединений и замедления выработки у бактерий резистентности к антибиотикам используются методы комбинированного действия антибактериальных препаратов [3]. При выборе комбинации препаратов необходимо учитывать возможные взаимодействия между ними, влияющие как на микро-, так и на макроорганизм. Выделяют три различных вида взаимодействия антибактериальных препаратов. При синергизме ряда антибиотиков происходит усиление антимикробного эффекта по срав-

нению с суммой биологических действий отдельно взятых препаратов. Такое действие антибиотиков проявляется в том случае, если препараты способны одновременно поражать важные реакции метаболизма клетки или если один из антибиотиков своим действием способствует повышению проницаемости в клетку другого антибиотика. При проявлении антагонизма антибиотиков антибиотический эффект комбинации препаратов может снижаться по сравнению с действием любого отдельно взятого антибиотика. Такое явление наблюдается в том случае, если один из компонентов раньше, чем другой, блокирует или подавляет одну из наиболее важных реакций общей цепи обмена веществ бактериальных клеток. Индифферентность совместного действия антибактериальных препаратов характеризуется тем, что биохимический эффект каждого из применяемых антибиотиков проявляется независимо один от другого. Такое использование комбинационного метода является перспективным, но требует детального изучения взаимодействия препаратов из-за возможного пагубного воздействия на макроорганизм [4]. Действительно, существуют примеры совместного использования антибиотиков, которые при реализации в системе *in vivo* проявляли синергизм. Такое сочетание противомикробных агентов благоприятно действовало на клинический исход у пациентов с хирургическим сепсисом [5], а также при лечении энтерококкового эндокардита [6]. Подтверждением того, что причиной выздоровления был синергидный эффект, служило определение бактерицидной способности сывороток пациентов, которая была эквивалентной бактерицидной активности при исследованиях *in vitro* [7].

В настоящее время в качестве альтернативы традиционным антибиотикам в подавлении бактерий возможно использование низкомолекулярных катионных пептидов [8, 9]. В данной работе представляются перспективными лантибиотики варнерин и хоминин [10, 11]. Лантибиотики являются пептидами с молекулярной массой порядка 1,5–5 кДа и обладают характерными атипичными структурными свойствами: наличием в составе пептидных цепей дегидрированных остатков серина и треонина и редких тиоэфирных аминокислот – лантионина и 3-метил-лантионина, благодаря которым в процессах посттрансляционной модификации формируются прочные внутримолекулярные тиоэфирные кольцевые структуры. В составе этих необычных пептидов встречаются также лизоаланин, D-аланин, лантионин-сульфоксид, *allo*-изолейцин и другие редкие соединения [12].

Целью настоящего исследования явилось изучение антибактериальной активности химически синтезированного «СА» для оценки перспектив его использования в качестве нового антисептического препарата, а также возможностей его применения в сочетании с другими антибактериальными препаратами, в том числе с низкомолекулярными катионными пептидами семейства лантибиотиков, для повышения эффективности их действия на бактерии, обладающие множественной устойчивостью к клинически значимым антибиотикам.

Материалы и методы исследования. В работе использовали бактериальные штаммы, выделенные из клинических изолятов коагулазонегативных стафилококков (КНС): бактерии *S.haemolyticus* 18, а также полученный лабораторной селекцией его производный штамм *S.haemolyticus* 18₃₃, обладающий устойчивостью к ванкомицину. В качестве референтных штаммов при оценке антибиотикочувствительности использовали бактерии *S.aureus* ATCC 25923 и *S.epidermidis* 33 GISK.

Бактерии культивировали в колбах на среде LB, содержащей, г/л: триптон – 10, дрожжевой экстракт – 5, KCl – 6,4, pH 7,2, с перемешиванием на орбитальном шейкере Certomat IS (Sartorius, Германия) при 150 об/мин и температуре 37 °С. За динамикой развития бактериальных культур следили по изменению их оптической плотности при 600 нм, используя спектрофотометр PD-303 (APEL, Япония) и кюветы с длиной оптического пути 1 см.

Определение чувствительности бактерий к ряду антибиотиков проводили методом диффузии с дисков [13]. Инокуляты бактерий готовили из суточных агаровых культур, суспендируя бактерии в питательном бульоне до оптической плотности $\approx 0,25$ (10^8 КОЕ/мл) при 600 нм в кювете с длиной оптического пути 1 см.

Минимальную ингибиторную концентрацию (МИК) антибактериальных препаратов ванкомицина (Sigma, США), даптомицина (Novartis Pharma AG, Швейцария), хлорамфеникола (Sigma, США), гентамицина (KRKA, Словения), рифампицина (Ферейн, Россия), низкомолекулярных катионных пептидов варнерина и хоминина и препарата «СА» для изучаемых штаммов определяли методом двукратных серийных разведений в бульоне. Титрование проводили в 96-луночных полистироловых планшетах с использованием питательных сред различного состава в зависимости от тестируемого антибактериального препарата. Питательные среды, использованные для тестирования ан-

тибактериальной активности, включали: LB, LB-б/KCl (без KCl), бульон Мюллера–Хинтона (САННВ) с установленным катионным составом, содержащим 20 мкг/мл ионов кальция и 10 мкг/мл ионов магния для всех антибиотиков, кроме даптомицина, а также содержащим дополнительно 50 мкг/мл ионов кальция для выявления чувствительности к даптомицину [14]. Инокуляты бактерий готовили, как указано выше для дискодиффузионного метода, и вносили в лунки планшетов до конечной концентрации 10^5 КОЕ/мл. Культивирование проводили при 37 °С в течение 24 ч. Минимальные концентрации антибиотиков, при которых в лунках отсутствовал рост бактерий, принимали как МИК.

Критериями оценки эффектов комбинации «СА» и антибиотиков служили:

1. Определение индекса фракционной ингибиторной концентрации (ФИК).

Были использованы следующие формулы для расчета индекса ФИК:

$$\text{ФИК А} = \text{МИК А в комбинации} / \text{МИК А};$$

$$\text{ФИК В} = \text{МИК В в комбинации} / \text{МИК В};$$

$$\text{Индекс ФИК} = \text{ФИК А} + \text{ФИК В},$$

где А – это препарат «СА»; В – антимикробный агент (ванкомицин, даптомицин, рифампицин, хлорамфеникол, варнерин, хоминин). Эффект комбинации считали синергидным при индексе ФИК $\leq 0,5$ и антагонистическим при индексе ФИК >1 . Результаты между проявлением синергизма и тенденцией к антагонизму определяли как индифферентные или нейтральные [15].

2. Представление в виде изоболографического анализа.

Концентрации антибиотиков в комбинациях, ингибирующих рост бактериальных культур, были фиксированы и нанесены на график, оси которого представляют собой концентрацию индивидуальных агентов (\times МИК). По оси X – концентрация препарата «СА», по оси Y – концентрация исследуемого антимикробного агента. Прямая линия, соединяющая максимальные значения концентраций индивидуальных препаратов – это прямая аддитивности, означает отсутствие взаимодействия, т.е. эффект комбинаций равен эффектам индивидуальных агентов [16]. Таким образом, при расположении точек ниже прямой эффект свидетельствует о синергизме, если выше, то – об антагонистическом действии.

Результаты и обсуждение. Для изучения физиологических свойств исследуемых штаммов бактерий была проведена оценка динамики их роста в жидких питательных средах. Полученные данные показаны на рис. 2.

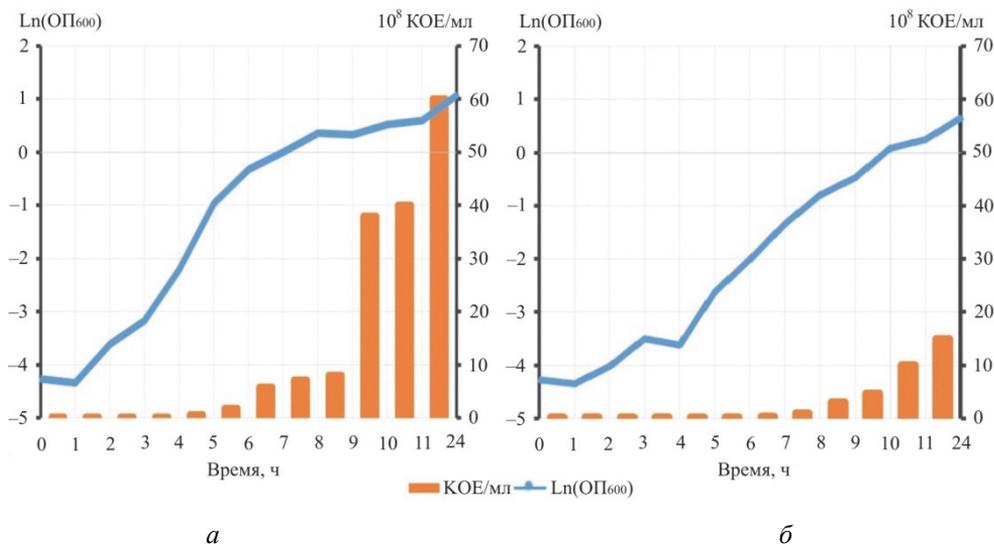


Рис. 2. Динамика роста *S. haemolyticus* 18 (а) и *S. haemolyticus* 18₃₃ (б)

На представленных графиках (см. рис. 2) видно, что для развития бактерий обоих штаммов характерна выраженная лаг-фаза. Для бактерий *S. haemolyticus* 18 она незначительна и заканчивается через 1 ч после засева. У бактерий штамма *S. haemolyticus* 18₃₃ лаг-фаза значительно длиннее. Важно отметить, что удельная скорость накопления биомассы штамма *S. haemolyticus* 18 составляет $1,106 \text{ ч}^{-1}$, в то время как для второго штамма она в два раза короче и составляет $0,606 \text{ ч}^{-1}$. Это во многом сказывается на общем количестве биомассы и содержании КОЕ. Как видно на графике, к 8–9 ч культивирования культура *S. haemolyticus* 18 уже вступает в фазу замедления роста, в то время как культура *S. haemolyticus* 18₃₃ находится на пике фазы ускоренного роста. Это свидетельствует о достаточно продолжительном времени генерации производного штамма, которое составляет 1,14 ч, а время генерации исходного штамма составляет 0,626 ч. Из данных экспериментов можно сделать вывод, что бактерии штамма *S. haemolyticus* 18 обладают большей скоростью роста и развития, нежели бактерии производного штамма *S. haemolyticus* 18₃₃. Возможно, это связано с утолщением клеточной стенки бактерий *S. haemolyticus* 18₃₃, что

определяет его большую устойчивость к ванкомицину, но замедляет скорость его роста и приводит к уменьшению накопления клеточной биомассы.

С помощью дискодиффузионного метода был выявлен ряд антибиотиков, к которым сохраняется чувствительность исследуемых штаммов. Эти антибиотики были использованы для определения МИК и постановки тестов по совместному действию с препаратом «СА» на исследуемые штаммы. При сравнительном анализе чувствительности штаммов к антибиотикам выявлено, что бактерии обоих штаммов обладают устойчивостью к группе бета-лактамовых антибиотиков, а также к эритромицину, гентамицину и ципрофлоксацину. Из этого можно сделать вывод, что исследуемые штаммы клинических КНС обладают некоторой полирезистентностью, но являются чувствительными к фузидину, линкомицину, хлорамфениколу, линезолиду, тетрациклину и рифампицину.

Особое внимание заслуживает чувствительность их к ванкомицину. По результатам исследования дискодиффузионного метода бактерии обоих штаммов следует считать чувствительными к ванкомицину. В то же время по результатам титрования в бульоне производный штамм обладает сниженной чувствительностью к ванкомицину с МИК в пределах от 8 до 32 мкг/мл. Важным дополнительным методом определения уровня устойчивости производного штамма к ванкомицину является популяционный анализ, который ранее выявил гетерогенный характер устойчивости к этому анти-биотику, при этом оказалось, что большая часть его популяции характеризуется МИК ванкомицина, равной 16 мкг/мл.

В соответствии с полученными данными для дальнейшего анализа был выбран ряд антибиотиков, к которым исследуемые штаммы оказались чувствительны: рифампицин, левомицетин (хлорамфеникол), даптомицин и ванкомицин. Помимо традиционных антимикробных агентов использовали действие перспективных низкомолекулярных катионных пептидов варнерина и хоминина, а также химически синтезированного препарата «СА». Результаты определения чувствительности исследуемых штаммов к антибактериальным препаратам представлены в табл. 1.

Из полученных данных видно, что оба штамма обладают одинаковой чувствительностью к препарату «СА», хлорамфениколу и рифампицину. При этом важно отметить, что производный штамм

S. haemolyticus 18₃₃, помимо устойчивости к ванкомицину, становится также нечувствительным к даптомицину и более устойчивым к катионным пептидам варнерину и хоминину.

Таблица 1

МИК антибактериальных препаратов, мкг/мл

Антибактериальный препарат	<i>S. haemolyticus</i> 18	<i>S. haemolyticus</i> 18 ₃₃
Ванкомицин ^a	2	16
Варнерин ^b	≥1000	≥2000
Хоминин ^b	≥80	≥300
«СА» ^{a/c}	1,2/0,5	1,2/0,5
Даптомицин ^c	0,4	1,6
Хлорамфеникол ^a	6,25	6,25
Рифампицин ^a	0,0005	0,0005

Примечание. Питательная среда для определения МИК: а – LB; b – LB-б/КСI; с – САМНВ.

Вероятно, что формирование устойчивости к ванкомицину уданного штамма сопровождается изменениями в метаболизме бактериальных клеток, приводящими к нарушению синтеза клеточных стенок и повышению резистентности к использованным в работе катионным пептидным антибактериальным препаратам. Важно отметить, что препарат «СА» обладает наибольшей активностью против исследуемых штаммов при тестировании в среде Мюллера–Хинтона, содержащей повышенное количество ионов кальция.

Результаты исследования совместного действия на изучаемые штаммы препарата «СА» с антибиотиками методом «шахматной доски» представлены на рис. 3 и в табл. 2, в которой приведены значения минимальных фракционных ингибиторных концентраций (ФИК) и индексы ФИК препарата «СА» в парах с рифампицином, даптомицином, ванкомицином, варнерином, хоминином и хлорамфениколом. Обнаружена выраженная индифферентность действия большинства пар антибактериальных препаратов против исследуемых штаммов с индексом ФИК от 0,5039 до 0,75. Исключением является комбинирование «СА» с рифампицином, приводящее к проявлению антагонизма, так как при этом для обоих штаммов индекс ФИК равен 1,03. Однако некоторые указанные в табл. 2 пары «СА» с антибиотиками по результатам изоболографического анализа обладают синергидным эффектом против бактерий исследуемых штаммов.

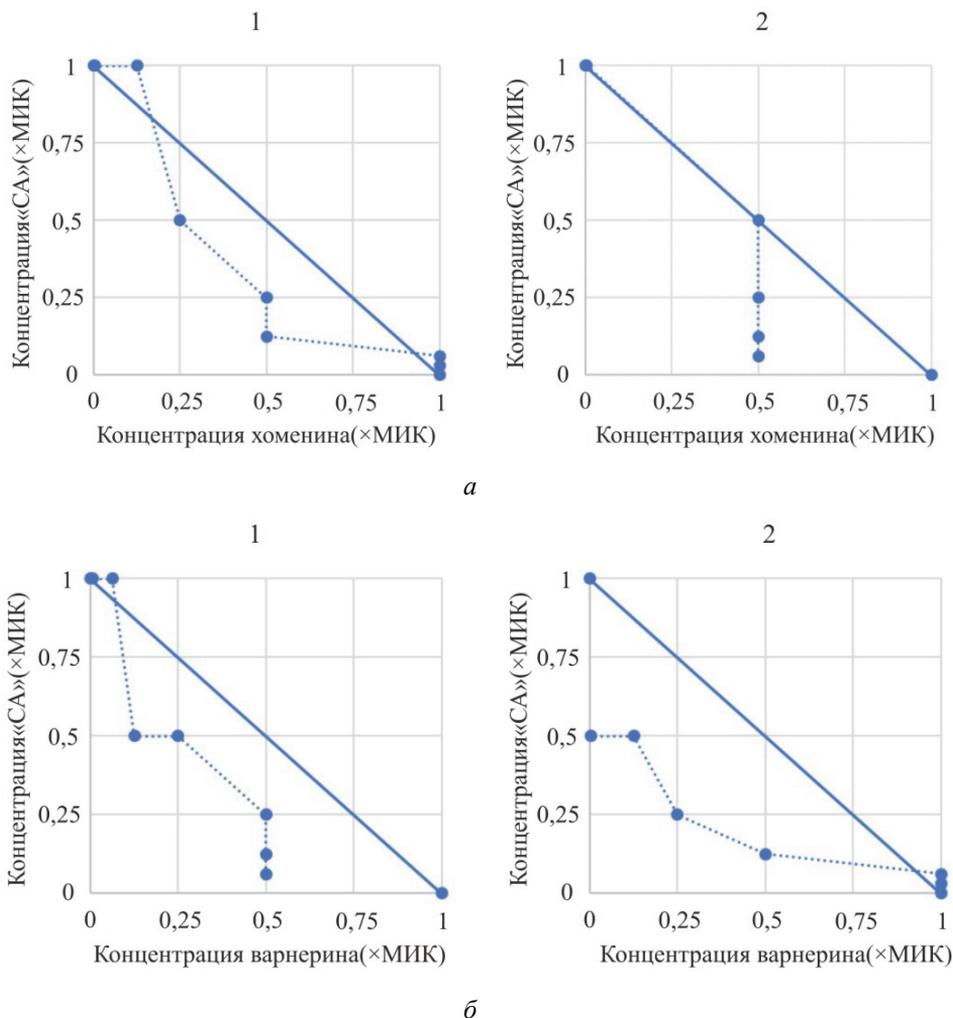


Рис. 3. Изоболографический анализ совместного действия «СА» + хоминин (а) и «СА» + варнерин (б) против *S.haemolyticus* 18 (1) и *S.haemolyticus* 18₃₃ (2)

На рис. 3, а представлен изоболографический анализ совместного действия «СА» + хоминин, который показывает, что точки, определяющие комбинации: 0,125×МИК + 0,5×МИК; 0,25×МИК + 0,5×МИК; 0,5×МИК + 0,25×МИК, для *S.haemolyticus* 18 и 0,0625×МИК + 0,5×МИК; 0,125×МИК + 0,5×МИК; 0,25×МИК + 0,5×МИК, для *S.haemolyticus* 18₃₃, располагаются ниже прямой аддитивности. Также синергидный эффект был обнаружен для пары «СА» + варнерин (рис. 3, б), так как обнаружено, что комбинации концентраций 0,0625×МИК + 0,5×МИК; 0,125×МИК + 0,5×МИК; 0,25×МИК + 0,25×МИК; 0,5×МИК + 0,25×МИК; 0,5×МИК +

+ 0,125×МИК для *S.haemolyticus* 18 и 0,125×МИК + 0,5×МИК; 0,25×МИК + 0,25×МИК; 0,5×МИК + 0,125×МИК; 0,5×МИК + 0,003×МИК для *S.haemolyticus* 18₃₃, располагаются ниже прямой аддитивности. Важно отметить, что некоторые сочетания препарата «СА» с ванкомицином, хлорамфениколом, варнерином и хоминином по результатам изоболографического анализа обладали синергидным эффектом против исследуемых штаммов.

Таблица 2

ФИК и индекс ФИК комбинаций антибиотиков

Комбинации	<i>S.haemolyticus</i> 18			<i>S.haemolyticus</i> 18 ₃₃		
	ФИК	Индекс ФИК	Эффект комбинации	ФИК	Индекс ФИК	Эффект комбинации
«СА»+ рифампицин	0.03 1	1.03	А	0.03 1	1.03	А
«СА»+ даптомицин	0.5 0.5	1	И	0.5 0.5	1	И
«СА»+ ванкомицин	0.03 0.5	0.53	И	0.03 0.5	0.53	И
	0.125 0.5	0.625	И	0.125 0.5	0.625	И
«СА»+ варнерин	0.0625 0.5	0.5625	И	0.125 0.5	0.625	И
	0.125 0.5	0.625	И	0.25 0.25	0.5	С
	0.25 0.5	0.75	И	0.5 0.125	0.625	И
	0.5 0.25	0.75	И	0.5 0.003	0.503	И
	0.5 0.125	0.625	И			
«СА»+ хоминин	0.125 0.5	0.625	И	0.0625 0.5	0.5625	И
	0.5 0.25	0.75	И	0.125 0.5	0.625	И
	0.25 0.5	0.75	И	0.25 0.5	0.75	И
«СА»+ хлорамфеникол	0.25 0.5	0.75	И	0.5 0.5	1	И
	0.5 0.5	1	И			

Примечание: А – антагонизм, И – индифференция, С – синергизм.

Заключение. Препарат «СА» является перспективным препаратом для подавления развития стафилококков с множественной устой-

чивостью к антибактериальным соединениям. По полученным методом «шахматной доски» экспериментальным данным видно, что результаты расчетов индексов ФИК и изоболографического анализа носят противоречивый характер. Следует отметить, что полученные результаты определяют необходимость проведения дополнительных экспериментов для более точного установления эффективности взаимодействующих препаратов путем анализа их совместного бактерицидного действия в опытах «кривых гибели во времени».

Работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы 01201353249 и комплексной программы УрО РАН, проект №18-7-8-8.

Список литературы

1. Additive, indifferent and antagonistic effects in combinations of epigallocatechin gallate with 12 non- β -lactam antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* / Z.-Q. Hu, W.-H. Zhao, Y. Yoda, N. Asano, Y. Hara, T. Shimamura // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2002. – Vol. 50. – P. 1051–1054.
2. Новые гетероциклические производные алкалоида анабазина и их антимикробные свойства / Р.Е. Бакирова, С.Д. Фазылов, О.А. Нуркенов, Л.Е. Муравлева, И.В. Кулаков, С.Б. Ахметова // *Успехи современного естествознания*. – 2009. – Т. 5. – С. 20–24.
3. Desbois A.P., Coote P.J. Bactericidal synergy of lysostaphin in combination with antimicrobial peptides // *J. Clin. Microbiol Infect. Dis.* – 2011. – Vol. 30. – P. 1015–1021.
4. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках – М.: Высшая школа, 1986. – 528 с.
5. Комбинированная антибиотикотерапия хирургического сепсиса / А.Ф. Серветник, А.В. Козаченко, А.Н. Нудыга, Е.А. Ковалева // *Медицина неотложной помощи*. – 2012. – Т. 7. – С. 69–71.
6. Weinstein A.J., Moellering R.C. Penicillin and gentamicin therapy for enterococcal infections // *The Journal of the American Medical Association*. – 1973. – Vol. 223. – P. 1030–1032.
7. Synergism between amikacin and cefazolin against *Klebsiella*: in vitro studies and effect on the bactericidal activity of serum / J. Klastersky, F. Meunier-Carpentier, J.M. Prevost, M. Staquet // *Journal Infect. Dis.* – 1976. – Vol. 134 – P. 271–276.
8. Nissen-Meyer J., Nes I.F. Ribosomally synthesized antimicrobial peptides: their function, structure, biogenesis, and mechanism of action // *Arch. Microbiol.* – 1997. – Vol. 167. – P. 67–77.

9. Коробов В.П., Полюдова Т.В., Лемкина Л.М. Пептидные факторы микробного антагонизма – природные антибиотики широкого спектра действия // Пермский медицинский журнал. – 2005. – Т. 22, № 1. – С. 134–144.

10. Выделение и характеристика нового низкомолекулярного антибактериального пептида семейства лантибиотиков / В.П. Коробов, Л.М. Лемкина, Т.В. Полюдова, В.К. Акименко // Микробиология. – 2010. – Т. 2, № 79. – С. 228–238.

11. Пат. 2528055 РФ. Антибактериальный пептид хоминин KLP-1 широкого спектра действия / Коробов В.П., Лемкина Л.М., Полюдова Т.В. – Оpubл. 19.06.2012.

12. Willey J.M., van der Donk W.A. Lantibiotics: peptides of diverse structure and function // *Annu. Rev. Microbiol.* – 2007. – Vol. 61. – P. 477–501.

13. Clinical and laboratory standards institute (CLSI). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. – Wayne, PA, 2012. – 68 p.

14. Synergism between aminoglycosides and cephalosporins with anti-pseudomonal activity: interaction index and killing curve method / H.O. Hallander, K. Dornbusch, L. Gezelius, K. Jacobson, I. Karlsson // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* – 1982. – Vol. 22, № 5. – P. 743–752.

15. Williamson E.M. Synergy and other interactions in phytomedicines // *Phytomedicine.* – 2001. – Vol. 8, № 5. – P. 401–409.

References

1. Hu Z.-Q., Zhao W.-H., Yoda Y., Asano N., Hara Y., Shimamura T. Additive, indifferent and antagonistic effects in combinations of epigallocatechin gallate with 12 non- β -lactam antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2002, no. 50, pp. 1051-1054.

2. Bakirova R.E., Fazylov S.D., Nurkenov O.A., Muravleva L.E., Kulakov I.V., Akhmetova S.B. Novye geterotsiklicheskie proizvodnye alkaloida anabazina i ikh antimikrobnye svoistva [New heterocyclic derivatives of the alkaloid anabasine and their antimicrobial properties]. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniia*, 2009, no.5, pp. 20-24.

3. Desbois A.P., Coote P.J. Bactericidal synergy of lysostaphin in combination with antimicrobial peptides. *J. Clin. Microbiol Infect. Dis*, 2011, no. 30, pp. 1015-1021.

4. Egorov N.S. Osnovy ucheniia ob antibiotikakh [The basis of the doctrine about antibiotics]. Moscow, Vysshiaia shkola, 1986, 528 p.

5. Servetnik A.F., Kozachenko A.V., Nudyga A.N., Kovaleva E.A. Kombinirovannaia antibiotikoterapiia khirurgicheskogo sepsisa [Combined antibiotic therapy of surgical sepsis]. *Medsina neotlozhnoi pomoshchi*, 2012, no. 7, pp. 69-71.

6. Weinstein A. J., R. C. Moellering. Penicillin and gentamicin therapy for enterococcal infections. *The Journal of the American Medical Association*, 1973, no. 223, pp. 1030-1032.

7. Klastersky J., F. Meunier-Carpentier, J. M. Prevost, M. Staquet. Synergism between amikacin and cefazolin against *Klebsiella*: in vitro studies and effect on the bactericidal activity of serum. *Journal Infect. Dis.*, 1976, no.134, pp. 271-276.

8. Nissen-Meyer J., Nes I.F. Ribosomally synthesized antimicrobial peptides: their function, structure, biogenesis, and mechanism of action. *Arch. Microbiol.*, 1997, no. 167, pp. 67-77.

9. Korobov V.P., Poliudova T.V., Lemkina L.M. Peptidnye faktory mikrobnogo antagonizma – prirodnye antibiotiki shirokogo spektra deistviia [Peptide factors of microbial antagonism – natural broad-spectrum antibiotics]. *Permskii meditsinskii zhurnal*, 2005, iss. 22, no. 1, pp. 134-144.

10. Korobov V.P., Lemkina L.M., Poliudova T.V., Akimenko V.K. Vydelenie i kharakteristika novogo nizkomolekuliarnogo antibakterial'nogo peptida semeistva lantibiotikov [Isolation and characterization of a new low-molecular antibacterial peptide of the antibiotic family]. *Mikrobiologiya*, 2010, iss. 2, no. 79. pp. 228-238.

11. Korobov, V. P., Lemkina, L. M., Poliudova, T. V. Antibakterial'nyi peptid khominin KLP-1 shirokogo spektra deistviia [Antibacterial peptide humanin KLP-1 broad-spectrum]. Patent Rossiiskaia Federatsiia no. 2528055 (2012).

12. Willey J.M., van der Donk W.A. Lantibiotics: peptides of diverse structure and function. *Annu. Rev. Microbiol.*, 2007, no. 61, pp. 477-501.

13. Clinical and laboratory standards institute (CLSI). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Wayne, PA, 2012. 68 p.

14. Hallander H.O., Dornbusch K., Gezelius L., Jacobson K., Karlsson I. Synergism between aminoglycosides and cephalosporins with antipseudomonal activity: interaction index and killing curve method. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1982, iss. 22, no. 5, pp. 743-752.

15. Williamson E.M. Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine*, 2001, iss. 8, no. 5, pp. 401-409.

Получено 29.10.2018

Об авторах

Пьянков Иван Алексеевич (Пермь, Россия) – студент, кафедра химии и биотехнологии Пермского национального исследовательского политехнического университета (614990, г. Пермь, Комсомольский пр., 29; e-mail: vanpyankov@gmail.com).

Кононова Людмила Ивановна (Пермь, Россия) – ведущий инженер лаборатории биохимии развития микроорганизмов Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН (614081, г. Пермь, ул. Голева, 13, e-mail: kononova_l@iegm.ru).

Коробов Владимир Павлович (Пермь, Россия) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры химии и биотехнологии Пермского национального исследовательского политехнического университета, завлабораторией биохимии развития микроорганизмов Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН (614081, г. Пермь, ул. Голева, 13, e-mail: korobov@iegm.ru).

Смоляк Андрей Алексеевич (Пермь, Россия) – кандидат химических наук, Институт технической химии УрО РАН (614013, г. Пермь, ул. Академика Королева, 3; e-mail: andrew_s82@mail.ru).

Шкляев Юрий Владимирович (Пермь, Россия) – доктор химических наук, профессор, Институт технической химии УрО РАН (614013, г. Пермь, ул. Академика Королева, 3; e-mail: yushka49@newmail.ru).

About the authors

Ivan A. Ryankov (Perm, Russian Federation) – Student of the Department of Chemistry and Biotechnology, Perm National Research Polytechnic University (29, Komsomolsky av., Perm, 614990; e-mail: mmsokolova@mail.ru).

Lyudmila I. Kononova (Perm, Russian Federation) – Engineer, Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms UrB RAS (13, Golev str., Perm, 614990; e-mail: kononova_l@iegm.ru).

Vladimir P. Korobov (Perm, Russian Federation) – Ph.D. of Medical Sciences, Associate Professor of chemistry and biotechnology Department, Perm National Research Polytechnic University, the Head Laboratory of Biochemistry of Microbial Development (13, Golev str., Perm, 614990; e-mail: korobov@iegm.ru).

Andrey A. Smolyak (Perm, Russian Federation) – Ph.D. of Chemical Sciences, Institute of Technical Chemistry UrB RAS (3, Academician Korolev str., Perm, 614013; e-mail: andrew_s82@mail.ru).

Yuri V. Shklyayev (Perm, Russian Federation) – Dr. of Chemical Sciences, Professor, Institute of Technical Chemistry UrB RAS (3, Academician Korolev str., Perm, 614013; e-mail: yushka49@newmail.ru).