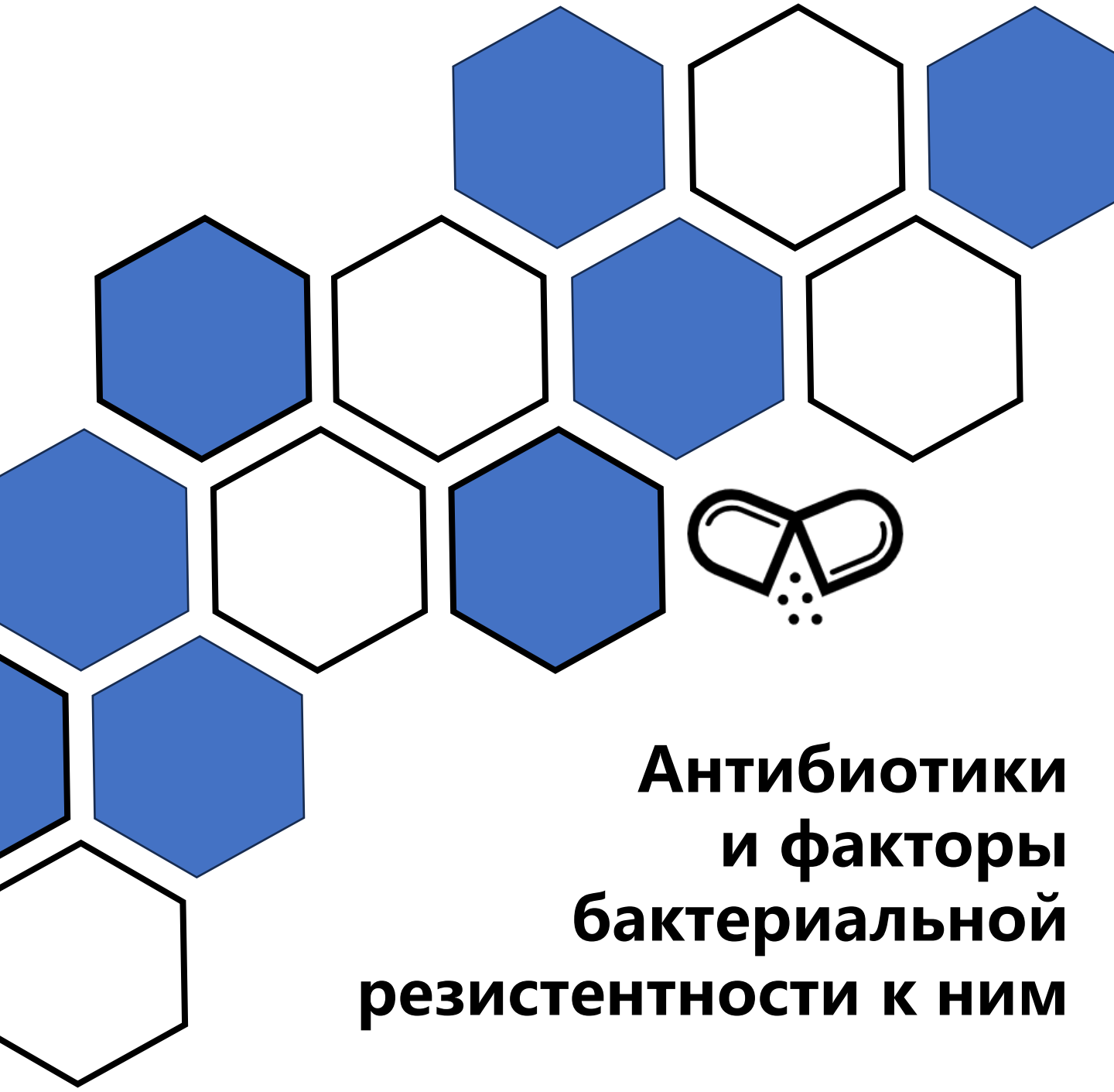


Антибиотики и факторы бактериальной резистентности к ним

20-21 ноября 2023.

Сборник тезисов
и программа
школы-конференции

Москва • ИМБ РАН

ANTIBIOTICS TODAY

ПРОГРАММА ШКОЛЫ-КОНФЕРЕНЦИИ

20 ноября 2023, понедельник

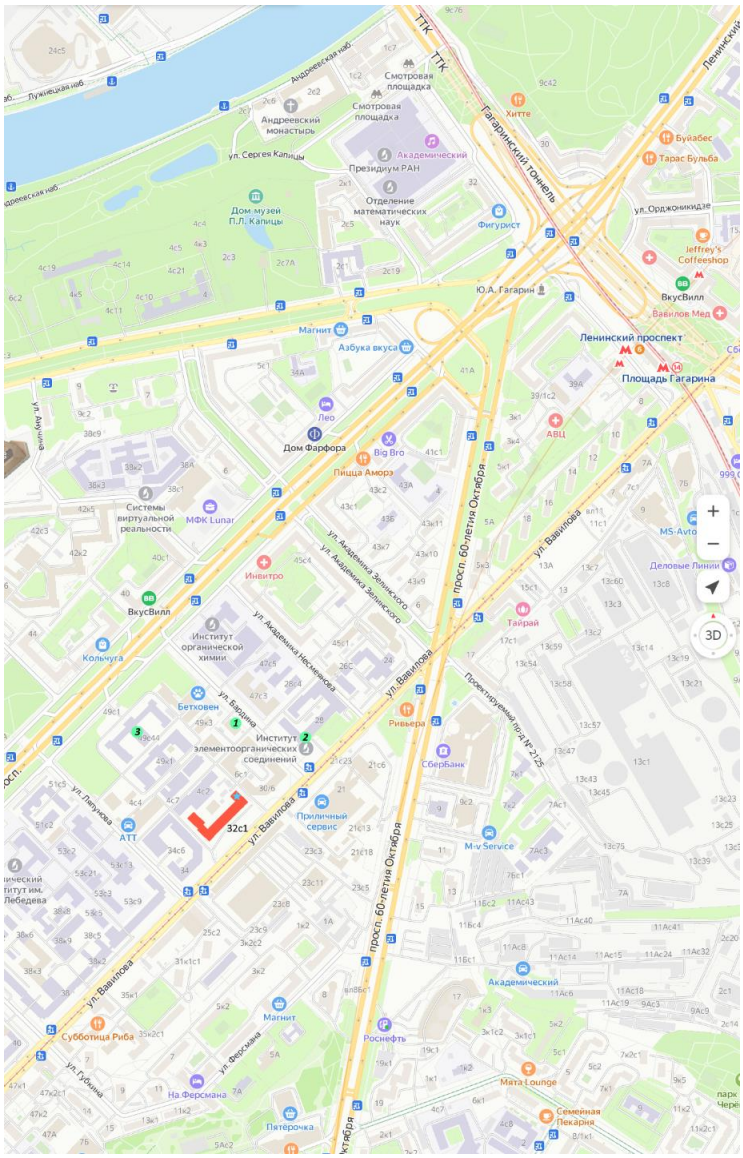
10:00	**Открытие школы-конференции** Митькевич Владимир Александрович	***Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (г. Москва)***
10:10	**Современные подходы к скринингу и изучению новых антибиотиков** Тюрин Антон Павлович	***Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (г. Москва)***
10:50	**Перспективные антимикробные вторичные метаболиты грибов-микромицетов из Коллекции морских микроорганизмов (КММ) ТИБОХ ДВО РАН** Юрченко Екатерина Александровна	***Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук (г. Владивосток)***
11:30	**Координация транскрипции с репарацией ДНК и антибиотикоиндуцибельным мутагенезом** Прошкин Сергей Александрович	***Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (г. Москва)***
12:15	**Обеденный перерыв**	
13:30	**Синтез противомикробных соединений, преодолевающих резистентность** Тихомиров Александр Сергеевич	***Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе (г. Москва)***
14:15	**Экспресс-презентация участников постерной сессии**	
15:00	**Начало постерной сессии (холл 3 этажа)**	
15:30	**Кофе-брейк**	
16:00	**Применение репортерной системы для поиска антибиотиков. Определение механизмов действия найденных соединений** Лукьянов Дмитрий Александрович	***Сколковский институт науки и технологий;*** ***Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова (г. Москва)***
16:40	**Спектроскопия ЯМР – инструмент поиска новых антибиотиков и изучения механизма действия** Польшаков Владимир Иванович	***Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова (г.Москва)***
17:20	**Молекулярные механизмы, ассоциированные с повышенной устойчивостью к антибиотикам у бактериальных штаммов, выделенных на Международной космической станции** Карпов Дмитрий Сергеевич	***Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (г. Москва)***

21 ноября 2023, вторник

10:00	**Вступительное слово** Митькевич Владимир Александрович	***Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (г. Москва)***
10:10	**Нужны ли нам новые антибиотики?** Алферова Вера Александровна, Коршун Владимир Аркадьевич	***Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (г. Москва)***
10:50	**Глубокое профилирование биоразнообразия в борьбе с антибиотикорезистентностью** Терехов Станислав Сергеевич	***Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (г. Москва)***
11:30	**Новые модифицированные гибридные аналоги триазольных противогрибковых препаратов** Левшин Игорь Борисович	***Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе (г. Москва)***
12:15	**Обеденный перерыв**	
13:30	**Устойчивость *Neisseria gonorrhoeae* к антимикробным препаратам и молекулярное типирование** Шаскольский Борис Леонидович	***Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (г. Москва)***
14:10	**Причины и механизмы распространения генов антибиотикорезистентности в микробных сообществах почв, находящихся под антропогенным давлением** Сазыкин Иван Сергеевич	***Южный федеральный университет (г. Ростов-на-Дону)***
14:50	**Подходы к преодолению резистентности бактерий на примере химического дизайна гликопептидных антибиотиков группы ванкомицина-тейкопланина** Олсуфьева Евгения Николаевна	***Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе (г. Москва)***
15:30	**Кофе-брейк**	
16:00	**Новая стратегия борьбы с бактериальными инфекциями** Миронов Александр Сергеевич	***Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (г. Москва)***
16:40	**Молекулярные механизмы устойчивости микобактерий** Зименков Данила Вадимович	***Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (г. Москва)***
17:20	**Подведение итогов**	

ANTIBIOTICS TODAY

ИНФОРМАЦИЯ О МЕРОПРИЯТИИ



Адрес для корреспонденции: ГПС-1, 199991, Москва, ул. Вавилова, д. 32, ИМБ РАН

Общественный транспорт: м. «Ленинский Проспект», 2 остановки трамвая №14 или №39 до ост. «Улица Бардина». Здание ИМБ РАН отмечено на карте.

Питание: В ИМБ РАН нет собственной столовой. На карте обозначены соседние учреждения со столовыми, где возможно пообедать во время перерыва: Кафе «Уют-Буфет» (1), ИНЭОС РАН (2), ИМЕТ РАН (3).

Техническая поддержка: Участникам устных докладов и экспресс-презентаций будет предоставлено оборудование для доклада (компьютер, проектор, указка, микрофон). Участникам постерной сессии будут обеспечены стенды и расходные материалы для вывешивания постера (формат А0). Запланирована трансляция устных докладов онлайн (информация появится на сайте конференции).

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт Молекулярной Биологии им. В.А. Энгельгардта
Российской академии наук

Оргкомитет конференции:

Митькевич Владимир Александрович – д.б.н., чл.-корр РАН, председатель оргкомитета;

Сольев Павел Николаевич – к.х.н., заместитель председателя оргкомитета;

Куликова Виталия Викторовна. – к.х.н., секретарь оргкомитета;

Анашкина Анастасия Андреевна. – к.ф.-м.н., секретарь оргкомитета;

Иванов Георгий Анатольевич – техническое сопровождение.

Контактный E-mail:

eimb-events@yandex.ru

eimb-events@mail.ru

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

Влияние пестицидов и минеральных удобрений на гены антибиотикорезистентности возделываемых почв

Т.Н. Ажогина, Л.Е. Хмелевцова, И.С. Сазыкин

Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону

E-mail: tazhogina@sfedu.ru

Распространение микробной устойчивости к антибиотикам серьезно угрожает общественному здравоохранению во всем мире. Почвы являются резервуаром генов резистентности к антибиотикам (АРГ). Применение различных агротехнических методов может увеличивать количество АРГ в почвах.

Цель работы - анализ влияния пестицидов и минеральных удобрены на гены антибиотикорезистентности в почве.

Полевой эксперимент проводили в пос. Рассвет Ростовской области. На экспериментальных участках выращивали нут (*Cicer arietinum* L.) и горох (*Pisum sativum* L.) в 4-х вариантах обработок: контроль, удобрения (N40P40K40), пестициды, совместное внесение удобрений и пестицидов. Образцы почвы отбирали на глубине 0–20 см для каждого участка методом «конверта». Из почвы выделяли тотальную ДНК, амплифицировали участок V3-V4 генов 16S рРНК с последующей индексацией ампликонов. Последовательности анализировали секвенированием следующего поколения с использованием системы MiSeq, затем группировали в операционные таксономические единицы (OTU) с порогом сходства последовательностей 97%. Количественное содержание АРГ в почвах оценивали с помощью ПЦР в реальном времени. Были изучены гены устойчивости к карбапенемам (*bla*VIM-1), тетрациклинам (*tetO*), макролидам (*ermB* и *mphA*), сульфонамидам (*sul2*), аминогликозидам (*aadA2*), а также гены трех интегронов – *int1*, *int2*, *int3*. Количество АРГ нормировали относительно количества генов 16S рРНК.

Под посевами гороха наблюдалось снижение количества всех АРГ, кроме *bla*VIM-1 и *tetO* по сравнению с контролем. Максимальное снижение было зарегистрировано для генов интегронов *int1*, *int2*, *int3* в делянках с добавлением только пестицидов. *bla*VIM-1 и *tetO* не были обнаружены в контрольной делянке, но при этом в остальных вариантах обработки встречались. Под посевами нута также наблюдалось снижение всех исследуемых АРГ, кроме генов *tetO*, *int1*, *int2*, *int3* в делянках с внесением только удобрений. В почвах под посевами гороха численность бактерий порядка Burkholderiales положительно коррелировала с количеством генов *int1*, *int2*, *int3*. Также была отмечена тесная положительная корреляция гена *ermB* с обилием порядка Actinomycetales, а для гена *mphA* с порядном Rhizobiales. Тесные отрицательные корреляции были отмечены для гена *aadA*2 и порядка Sphingomonadales, *bla*VIM и Burkholderiales. Под посевами нута была обнаружена тесная положительная корреляция между генами *int1, int2* и порядком Micrococcales. Тесная отрицательная корреляция была обнаружена между геном *int3* и порядком Cytophagales.

Таким образом, вероятно, что резистом изменяется в зависимости от микробиома почвы, который в свою очередь зависит от выращиваемого растения и его корневых экссудатов, а горизонтальный перенос генов играет не столь значимую роль.

Благодарности: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-76-10048, https://rscf.ru/project/21-76-10048/ в Южном федеральном университете

Гены антибиотикорезистентности в донных отложениях соленых озер

Т.Н. Ажогина

Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону

E-mail: tazhogina@sfedu.ru

Гены антибиотикорезистентности (АРГ) являются новыми загрязнителями окружающей среды, которые могут передаваться микрофлоре человека. Донные отложения соленых озер являются неизученными резервуарами генов резистентности к антибиотикам.

Цель работы – изучить спектр и количество генов антибиотикорезистентности в донных отложениях соленых озер.

Донные отложения отбирали из 5 озер, расположенных на территории республики Калмыкия. Образцы донных отложений отбирали на глубине 0–20 см методом «конверта». Все озера характеризовались разной степенью минерализации. Из донных отложений выделяли тотальную ДНК, амплифицировали участок V3-V4 гена 16S рРНК с последующей индексацией ампликонов. Последовательности анализировали секвенированием следующего поколения с использованием системы MiSeq, затем группировали в операционные таксономические единицы (OTU) с порогом сходства последовательностей 97%. Количественное содержание АРГ в почвах оценивали с помощью ПЦР в реальном времени. Были изучены гены устойчивости к карбапенемам (*bla*VIM-1), цефалоспоринам (*bla*CTX-M и *mecA*), гликопептидам (*vanA* и *vanB*), тетрациклинам (*tetO*), макролидам (*ermB* и *mphA*), сульфонамидам (*sul*2), аминогликозидам (*aadA*2). Количество АРГ было нормировано относительно количества генов 16S рРНК.

Количество гена *aadA*2 варьировалось в пределах от $1{,}29 \times 10^{-4}$ до $2{,}48 \times 10^{-3}$; *sul*2 – от $2{,}83 \times 10^{-4}$ до $4{,}68 \times 10^{-3}$; *mphA* – от $4{,}09 \times 10^{-7}$ до $1{,}28 \times 10^{-4}$; *ermB* – от $2{,}83 \times 10^{-6}$ до $1{,}02 \times 10^{-4}$; *vanA* – от $1{,}69 \times 10^{-6}$ до $1{,}88 \times 10^{-5}$; *vanB* – от $3{,}22 \times 10^{-5}$ до $5{,}32 \times 10^{-4}$; *tetO* – от $6{,}72 \times 10^{-5}$ до $1{,}12 \times 10^{-3}$; *mecA* – от $1{,}01 \times 10^{-8}$ до $7{,}16 \times 10^{-6}$; *bla*CTX-M – от $4{,}46 \times 10^{-4}$ до $1{,}51 \times 10^{-3}$; blaVIM – от $5{,}35 \times 10^{-5}$ до $7{,}78 \times 10^{-4}$.

Все 10 исследуемых генов были обнаружены только в донных отложениях озера Деед-Хулсун, также в них зарегистрировано максимальное содержание гена устойчивости к карбапенемам (*bla*VIM). Наименьший спектр АРГ обнаружен в донных отложениях озера Меклетинское. В донных отложениях лимана Голый обнаружено наибольшее количество генов устойчивости к макролидам (*mphA*, *ermB*), гликопептидам (*vanA*, *vanB*) и аминогликозидам (*aadA*2). Наибольшее количество генов устойчивости к сульфаниламидам (*sul*2) и тетрациклинам (*tetO*) обнаружено в донных отложениях озера Колтан-Нур, а к цефалоспоринам (*mecA*, *bla*CTX-M) – в донных отложениях озера Большое Яшалтинское. Наибольшее суммарное количество АРГ было зарегистрировано в донных отложениях озера Колтан-Нур, а наименьшее – в озере Меклетинском.

Таким образом, в донных отложениях соленых озер было обнаружено все 10 исследованных АРГ. Наибольший спектр был характерен для озера Деед-Хулсун, расположенного в одноименном заказнике. Полученные данные свидетельствуют о широком распространении АРГ в донных отложениях соленых озер.

Бис-аммониевые соединения на основе производных пиридоксина и жирных карбоновых кислот: синтез и биологические свойства

А.С. Акчурин, Е.С. Булатова, Н.В. Егорова, С.В. Сапожников, М.Н. Агафонова, М.Р. Гарипов, Н.В. Штырлин, Ю.Г. Штырлин

Научно-образовательный центр фармацевтики, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань

E-mail: AlSAkchurin@kpfu.ru

Разработка безопасных и высокоактивных препаратов, эффективных в отношении, прежде всего, резистентных штаммов микроорганизмов, является одной из важнейших задач медицинской химии. Ранее в систематических исследованиях нашей группы было показано, что четвертичные аммониевые соединения на основе пиридоксина (витамина B_6) и жирных карбоновых кислот обладают высокой антибактериальной активностью, а также низкой токсичностью *in vitr*o и *in vivo* [1].

В продолжение данных исследований в настоящей работе в 4-6 стадий были получены 37 бис-аммониевых соединений, содержащих в составе амидные или сложноэфирные фрагменты жирных карбоновых кислот (схема 1).

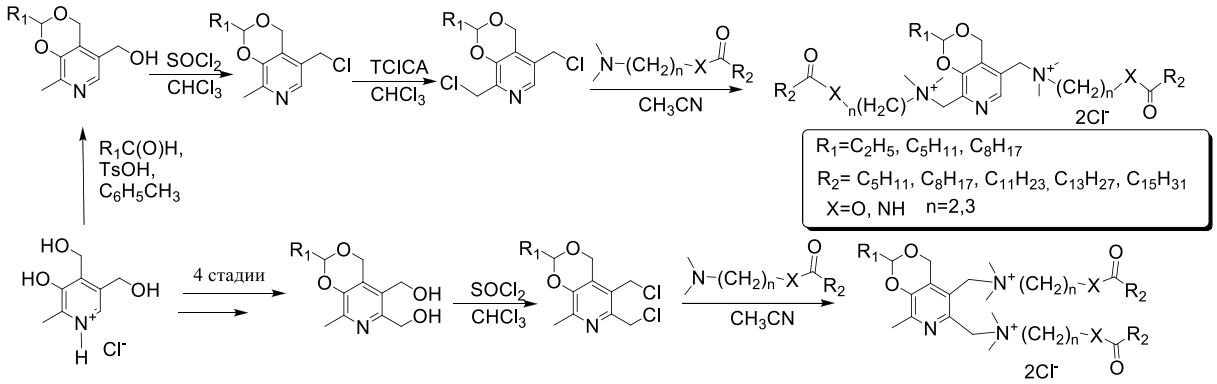


Схема 1. Синтез бис-аммониевых соединений на основе производных пиридоксина

Исследования *in vitro* антибактериальной активности на 6 музейных и 16 клинических штаммах бактерий, а также токсичности на условно-нормальных клетках печени (CHL) и фибробластах кожи человека (HSF) показали, что некоторые из полученных соединений обладают сопоставимой с коммерческими антисептиками (мирамистином, бензалкония хлоридом и хлоргексидином) активностью (МИК = 2-4 мкг/мл), но при этом более низкой токсичностью (CC_{50} = 8-65 мкг/мл).

Для наиболее активного соединения исследовалось формирование резистентности на шести клинических бактериальных штаммах при 30-кратном пассировании. Было показано, что в отличие от хлоргексидина для тестируемого соединения, как и для мирамистина и бензалкония хлорида, не наблюдалась выработка устойчивости.

Список литературы:

1. Sapozhnikov, S. V.; Sabirova, A. E.; Shtyrlin, N. V.; Druk, A. Y.; Agafonova, M. N.; Chirkova, M. N.; Kazakova, R. R.; Grishaev, D. Y.; Nikishova, T. V.; Krylova, E. S.; Nikitina, E. V.; Kayumov, A. R.; Shtyrlin, Y. G. Design, synthesis, antibacterial activity and toxicity of novel quaternary ammonium compounds based on pyridoxine and fatty acids. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *211*, 113100. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.113100

Благодарности: Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения проектной части государственного задания в сфере научной деятельности №FZSM-2022-0018.

Оценка активности меропенема в отношении *Klebsiella pneumoniae* в стандартных условиях метода микроразведений, при увеличении инокулята и объёма среды

К.Н. Алиева, А.А. Кузнецова, М.В. Голикова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе», г. Москва

E-mail: qvimqwem@yandex.ru

При определении антибактериальной активности антибиотика в условиях увеличенного инокулята бактерий по сравнению со стандартным (5×10^7 КОЕ/мл вместо 5×10^5 КОЕ/мл) может наблюдаться значительное (в 8 и более раз) повышение минимальной подавляющей концентрации (МПК) препарата. Такой «эффект инокулята» часто наблюдают с бета-лактамами и продуцентами бета-лактамаз, и он может быть фактором риска снижения эффективности лечения антибиотиками инфекций с большой микробной нагрузкой [1]. Активность антибиотика также может снижаться при увеличении объёма питательной среды, в которой проводится тестирование, по сравнению со стандартным («эффект объёма») [2]. Чтобы сравнить влияние обоих факторов на активность антибиотика, мы оценили МПК меропенема в отношении пяти штаммов *Klebsiella pneumoniae* в стандартных условиях (метод микроразведений с объёмом питательной среды 0,2 мл и инокулятом 5×10^5 КОЕ/мл (С)) и в следующих нестандартных условиях: метод микроразведений с повышенным инокулятом 5×10^7 КОЕ/мл (И↑); метод макроразведений в объёме среды 220 мл с инокулятом 5×10^5 КОЕ/мл (О↑) и с повышенным инокулятом 5×10^7 КОЕ/мл (ОИ↑). Значения МПК в нестандартных условиях возросли у всех штаммов в 4-64 раза по сравнению со значениями в стандартных условиях (Рисунок 1). При увеличении объёма среды в разряд устойчивых к меропенему (МПК > 8 мкг/мл) перешли 3 штамма, при увеличении инокулята или инокулята вместе с объёмом – 4 штамма. Таким образом, наряду с повышенной концентрацией клеток патогенной бактерии в очаге инфекции, фактором риска снижения эффективности лечения может быть повышенный объём жидкости в очаге инфекции по сравнению с тем, что используется при стандартном определении МПК (0,1-0,2 мл). Тестирование МПК в условиях, позволяющих выявить «эффект инокулята» и «эффект объёма» может способствовать грамотному подбору антибиотикотерапии.

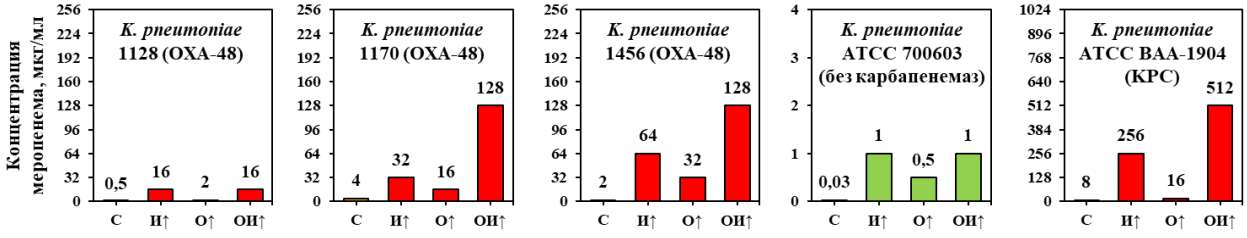


Рисунок 1. Результаты определения МПК меропенема в отношении *Klebsiella pneumoniae* при различных условиях. В скобках после названия штамма указаны продуцируемые карбапенемазы.

Список литературы:

1. Lenhard J.R.; Bulman Z.P. Inoculum effect of b-lactam antibiotics *J. Antimicrob. Chemother*. 2019, 74, 2825-2843. DOI: 10.1093/jac/dkz226

2 Alieva K.N.; Golikova M.V.; Kuznetsova A.A.; Zinner S.H. Fluorescence Microscopy: Determination of Meropenem Activity against *Klebsiella pneumoniae*. *Antibiotics*. 2023, 12, 1170. DOI: 10.3390/antibiotics12071170

Благодарности: Исследование проведено благодаря финансовой поддержке Российского научного фонда (грант РНФ №22-75-00066).

Синтез и изучение антибактериальной активности ряда производных антимикробного пептида апидецина

Ф.Р. Бажутов[1], А.Г. Терещенков[1,2], Е.А. Разумова[1], И.А. Волынкина[1,3], Д.А. Лукьянов[1], Д.Д. Исматуллина[4], Н.В. Сумбатян[1]

[1]Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, г. Москва;

[2]Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, г. Москва;

[3]Сколковский институт науки и технологий, г. Москва;

[4]Самарский государственный медицинский университет, Научно-образовательный профессиональный центр генетических и лабораторных технологий, г. Самара.

E-mail: filipp.2018@mail.ru

Антимикробные пептиды представляют особый интерес для современной науки как перспективный класс новых антибиотических веществ. Данные соединения в отличие от производных традиционных антибиотиков в меньшей степени подвержены возникновению резистентности и могут быть легко модифицированы для её преодоления.

Апидецин (Api) – это антимикробный 18-членный пролин-богатый пептид, эффективный в отношении грамотрицательных бактерий. Он блокирует биосинтез белка, проникая в рибосомный туннель и связывая фактор терминации трансляции, не допуская диссоциации рибосомы. Существенным недостатком Api является отсутствие активности против грамположительных бактерий. Для преодоления этой проблемы было решено модифицировать *N*-концевую аминогруппу пептида алкилтрифенилфосфониевым (TPP) остатком, легко проникающим через мембраны и обладающим известным эффектом ингибирования роста грамположительных бактерий вследствие деполяризации мембраны.

Целью данной работы было молекулярное моделирование, синтез, оценка антибактериальной активности и установление механизма действия *C*-концевых фрагментов апидецина, модифицированных по *N*-концевой аминогруппе алкилтрифенилфосфониевой группировкой с различной длиной алкильного линкера.

Выбранные на основе результатов молекулярного докинга соединения были получены методом твердофазного пептидного синтеза с использованием Fmoc-стратегии, выделены путем ВЭЖХ и охарактеризованы с помощью масс-спектрометрии. Оказалось, что полученные конъюгаты проявляют антимикробный эффект как к грамотрицательным, так и грамположительным бактериям. Кроме того, одно из соединений, модифицированных TPP-группой, активно в отношении резистентных к Api штаммов *E. coli*, имеющих мутации в транспортных белках. Методом конкурентного вытеснения флуоресцентно меченного Api было изучено взаимодействие полученных соединений с 70S рибосомами *E. coli*. Показано, что введение остатка TPP повышает аффинность пептида к рибосоме и увеличивает его способность ингибировать бактериальную трансляцию *in vitro*.

Таким образом, механизм действия модифицированных пептидов оказался аналогичен исходному Api, однако введение TPP-группы в структуру позволило расширить спектр их действия, в том числе на резистентные к Api штаммы, по-видимому, за счёт улучшения способности проникать в клетки бактерий.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-24-00247.

Разнообразие генов антибиотикорезистентности в сточных водах города Москвы

Бегматов Ш.А.[1], Белецкий А.В.[1], Дорофеев А.Г.[2], Пименов Н.В.[2], Марданов А.В.[1], Равин Н.В.[1]

[1]Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина, ФИЦ Биотехнологии РАН, г. Москва;

[2]Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, г. Москва.

E-mail: shabegmatov@gmail.com

Станции по очистке коммунальных сточных вод являются источниками как устойчивых к антибиотикам бактерий, так и генов резистентности к антибиотикам (резистом), которые попадают из них в окружающую среду. Очистные сооружения, в которые поступают сточные воды и микроорганизмы из различных источников, являются «горячими точками» для формирования штаммов с множественной резистентностью и их распространения. Московские станции по очистке коммунальных сточных вод, являющиеся одними из крупнейших в мире, ежедневно сбрасывают более 6 млн. куб. м очищенной воды в реку Москва, что составляет около половины ее стока. С учетом их масштаба, очистные сооружения Москвы могут быть крупным распространителем детерминант устойчивости к антибиотикам.

С целью изучения разнообразия и механизмов распространения генов антибиотикорезистентности нами был проведен метагеномный анализ образцов сточных вод (до и после очистки) и активных илов двух крупных очистных сооружений города Москвы.

Результаты анализа микробных сообществ по генам 16S рРНК показали, что относительная численность представителей филумов *Campylobacterota* и *Firmicutes* в ходе биологической очистки воды значительно уменьшается, в то время как доли протеобактерий, *Patescibacteria, Nitrospirota* и *Nanoarchaeota* в активных илах и очищенной воде увеличились.

В неочищенных сточных водах было обнаружено 549 АРГ, которые могут придавать устойчивость к наиболее часто используемым классам антибиотиков. Резистом составлял около 0,05% от общего метагенома, а после биологической очистки воды его доля уменьшалась в 3–4 раза. В резистомах всех исследованных образцов преобладали АРГ, кодирующие устойчивость к бета-лактамам, макролидам, аминогликозидам, тетрациклину, четвертичным аммониевым соединениям и сульфаниламидам. Гены устойчивости к макролидам и тетрациклинам удалялись более эффективно, чем бета-лактамазы, особенно *ampC*, который был наиболее многочисленным в резистоме очищенной воде. На эффективность удаления отдельных АРГ влияла технология очистки.

Сравнение резистомов очистных сооружений города Москвы и других крупных городов мира показало, что состав резистома зависит от социально-экономических, медицинских и экологических факторов.

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках проекта 22-74-00022.

Антибактериальная активность метилпиридиниевых солей на основе производных пиридоксина

М.А. Белова, Е.С. Булатова, С.В. Сапожников, М.Н. Агафонова,
А.Д. Стрельник, Н.В. Штырлин, Ю.Г. Штырлин

Научно-образовательный центр фармацевтики, Казанский (Приволжский)
федеральный университет, г. Казань

E-mail: MargABelova@kpfu.ru

Повсеместное распространение возбудителей, устойчивых к противомикробным препаратам, делает все более актуальной проблему разработки препаратов, способных воздействовать именно на резистентные микроорганизмы. Ранее в нашей исследовательской группе было показано, что четвертичные аммониевые соединения на основе производных пиридоксина (витамина B_6) обладают высокой противомикробной активностью и способны препятствовать выработке резистентности у бактерий [1].

В продолжение этих исследований в настоящей работе была синтезирована библиотека из 35 метилпиридиниевых солей на основе ацеталей пиридоксина с липофильными фрагментами жирных карбоновых кислот (рисунок 1).

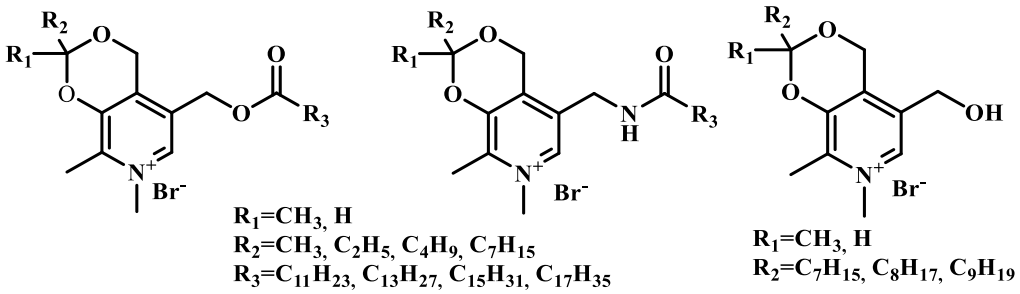


Рисунок 1. Метилпиридиниевые соли на основе витамина B_6

Результаты исследования антибактериальной активности *in vitro* на 6 музейных и 16 клинических бактериальных штаммах, а также цитотоксичности на 3-х условно-нормальных линиях клеток человека (HSF, Chang Liver, MSC) показали, что некоторые из полученных соединений проявили сопоставимую с коммерческими антисептиками (мирамистином, хлоргексидином и бензалкония хлоридом) антибактериальную активность (МИК = 0.5-16 мкг/мл), а также более низкую цитоксичность (CC_{50} = 2-51 мкг/мл).

Для соединения, проявившего наиболее высокую активность, была исследована способность препятствовать выработке резистентности на шести клинических бактериальных штаммах. Было показано, что, в отличие от хлоргексидина, для исследуемого соединения, мирамистина и бензалкония хлорида выработка резистентности не наблюдалась даже при 30-кратном пассировании.

Список литературы:

[1] Штырлин, Ю. Г. и др. *Химия пиридоксина в разработке лекарственных средств*; Издательство Казанского университета, **2022**.

Благодарности: Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения проектной части государственного задания в сфере научной деятельности №FZSM-2022-0018.

Система детектирования полипептидов в полиакриламидном геле с использованием флуорофора BODIPY

М.С. Биджиева[1,2], О.А. Толичева[1], В.И. Марина[3,4], В.Э. Сагитова[4], О.А. Донцова[3,4,5,6], П.В. Сергиев[3,4,5,7], Е.В. Полесскова[1,2], А.Л. Коневега[1,2,8]

[1]Санкт-Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», г. Гатчина;

[2]Санкт-Петербургский Политехнический университет Петра Великого, г. Санкт-Петербург,

[3]Сколковский институт науки и технологий, Сколково;

[4]Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва;

[5]Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, г. Москва;

[6]Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова Российской академии наук, г. Москва;

[7]Институт функциональной геномики Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, г. Москва;

[8]Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», г. Москва.

E-mail: bidzhieva_ms@pnpi.nrcki.ru

Трансляция — сложный многостадийный процесс. Существует большое количество методов для анализа основных этапов биосинтеза белка, но многие из них имеют ограничения и недостатки. В связи с этим оптимизация существующих методов исследования механизма трансляции и разработка новых является актуальной задачей.

Для анализа биосинтеза белка и механизмов действия ингибиторов трансляции зачастую используется метод радиоактивного мечения. В данной работе представлен простой и быстрый альтернативный способ анализа поэтапного синтеза полипептида, в котором вместо радиоактивных меток использовался флуорофор BODIPY. Использование BODIPY-меченой инициаторной метионил-тРНК в реконструированной in vitro системе трансляции позволило нам визуализировать пошаговый синтез пептидов при помощи электрофоретического разделения пептидов в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях [1-3]. Адекватность и эффективность работы системы были подтверждены контрольными экспериментами с использованием радиоактивных меток и ингибиторов биосинтеза белка с известными механизмами действия.

Представленный метод позволяет анализировать различные этапы синтеза белка, а также изучать механизмы работы ингибиторов трансляции. Уникальной особенностью разработанной системы является ее сверхвысокая чувствительность с порогом детектирования в области 0,1 пмоль полипептида. Среди остальных преимуществ метода стоит отметить его простоту использования, короткую длительность эксперимента, дешевизну и экологичность.

Список литературы:

1. Treibs A., Kreuzer F. H. Difluorboryl-komplexe von di-und tripyrrylmethenen //Justus Liebigs Annalen der Chemie. – 1968. – Т. 718. – №. 1. – С. 208-223.
2. Yang L. et al. Some observations relating to the stability of the BODIPY fluorophore under acidic and basic conditions //Dyes and Pigments. – 2011. – Т. 91. – №. 2. – С. 264-267.
3. Summer H., Grämer R., Dröge P. Denaturing urea polyacrylamide gel electrophoresis (Urea PAGE) //JoVE (Journal of Visualized Experiments). – 2009. – №. 32. – С. e1485.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (грант № 22-14-00278).

Синтез и антимикробная активность бис-, трис- и тетракис-аммониевых соединений на основе эфиров пентаэритрита и производных пиридоксина

А.С. Биктимирова, С.В. Сапожников, Н.В. Штырлин, Е.С. Булатова, М.Н. Агафонова, Ю.Г. Штырлин

Научно-образовательный центр фармацевтики, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань

E-mail: AlSYandimirova@kpfu.ru

Развитие лекарственной устойчивости к противомикробным препаратам как системного, так и местного действия является актуальной проблемой современного здравоохранения. В настоящее время важнейшим классом антисептических препаратов являются четвертичные аммониевые соединения (ЧАС). В медицинской химии ключевым подходом для преодоления резистентности микроорганизмов к данному классу соединений является синтез поликатионных соединений [1].

В продолжение систематических исследований производных пиридоксина [2], в настоящей работе в 4-5 стадий были получены ЧАС на основе эфиров пентаэритрита и производных пиридоксина, содержащих аммониевые фрагменты (рисунок 1).

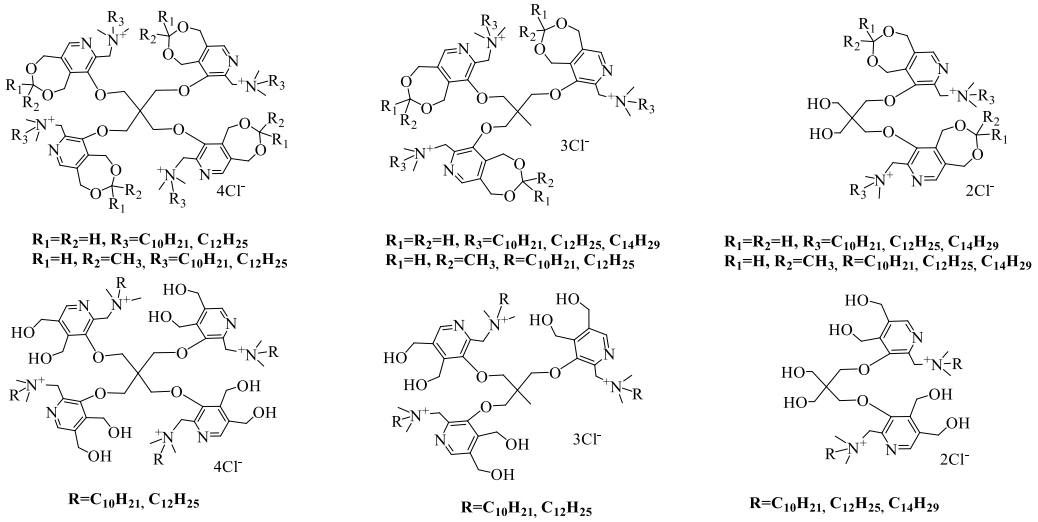


Рис. 1. Структуры ЧАС на основе эфиров пентаэритрита с производными пиридоксина

Полученные соединения в отношении 12 музейных и 20 клинических штаммов бактерий показали высокую антибактериальную активность (MIC=1-32 мкг/мл). Индекс селективности ($SI=CC_{50}/MIC$) сопоставим или превосходит препараты сравнения: мирамистин и бензалкония хлорид (исследуемые соединения SI=1-6, препараты сравнения SI=0,1-1).

Список литературы:

[1] Morrison, K. R.; Allen, R. A.; Minbiole, K. P.; Wuest, W. M. More QACs, more questions: Recent advances in structure activity relationships and hurdles in understanding resistance mechanisms. *Tetrahedron Lett.* **2019**, *60 (37)*, 150935. DOI: 10.1016/j.tetlet.2019.07.026.

[2] Shtyrlin, Y. G.; Petukhov, A. S.; Strelnik, A. D.; Shtyrlin, N. V.; Iksanova, A. G.; Pugachev, M. V.; Pavelyev, R. S.; Dzyurkevich, M. S.; Garipov, M. R.; Balakin, K. V. Chemistry of pyridoxine in drug design. *Russ. Chem. Bull.* **2019,** *68(5).* 911-945. DOI: 10.1007/s11172-019-2504-5.

Благодарности: Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности №FZSM- 2022-0018.

Синтез и антибактериальная активность новых спироциклических производных пирролидина

Л.В. Виноградова, М.Е. Журавлев, А.Ю. Лукин

МИРЭА – Российский технологический университет, институт тонких химических технологий им. М.В.Ломоносова, г. Москва

E-mail: vlv010599@yandex.ru

Поиск новых концептуальных путей повышения эффективности лечения туберкулеза, в том числе и при МЛУ формах, является одним из важнейших и приоритетных направлений в современной фтизиатрии. В нашей лаборатории было получено спироциклическое производное пирролидина формулы 1, обладающее хорошей противотуберкулёзной активностью в отношении стандартного и клинических штаммов *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью. Оно не проявляет цитотоксического действия in vitro и отличается хорошей переносимостью [1]. Для поиска новых противотуберкулезных соединений мы синтезировали 4 серии спироциклических производных пирролидина с различной природой заместителей и каркаса спироцикла.

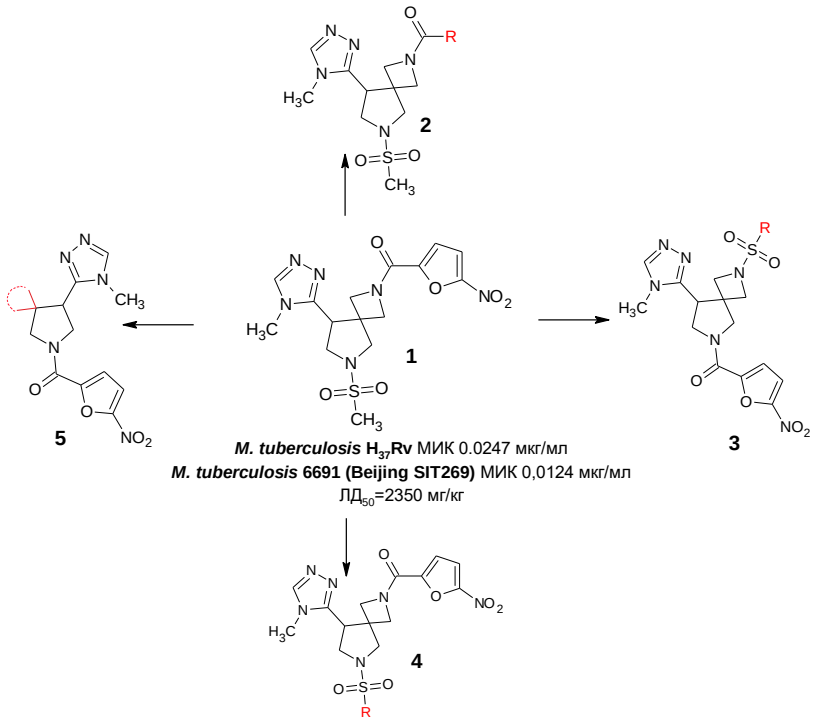


Схема 1. Общая схема потенциальных противотуберкулезных спироциклических производных пирролидинов.

Противотуберкулезная активность серий соединений 2-5 изучается.

Список литературы:

1. Заявка на изобретение № 2023123064 от 04.09.2023. 8-(4-Метил-4Н-1,2,4-триазол-3-ил)-6-(метилсульфонил)-2-(5-нитро-2-фуроил)-2,6-диазаспиро[3.4]октан, обладающий противотуберкулезной активностью в отношении возбудителя туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью, и способ его получения / Лукин А.Ю., Виноградова Т.И., Догонадзе М.З., Комарова К.Ю., Виноградова Л.В., Дарьин Д.В., Лаврова А.И., Постников Е.Б., Сычев А.В., Яблонский П.К.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (грант FSFZ-2023-0004).

Актинобактерии – ассоцианты беспозвоночных, как объект поиска продуцентов антибиотиков, преодолевающих антибиотикорезистентность патогенных микроорганизмов

М.В. Демьянкова[1], О.В. Ефременкова[1], А.А. Глухова[1], А.В. Якушев[2], В.С. Садыкова[1]

[1]Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, г. Москва;

[2]Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, г. Москва.

E-mail: mary_bunny@mail.ru

Цель исследования заключалась в поиске актинобактерий – продуцентов антибиотиков, преодолевающих лекарственную устойчивость патогенных микроорганизмов.

Актуальность поиска продуцентов новых природных антибиотиков обусловлена все возрастающим распространением устойчивых форм патогенов, и, соответственно, неэффективностью современных антибиотиков. Проблема носит глобальный характер.

Методы: выделение актинобактерий из природных источников, поверхностное и глубинное культивирование, микроскопия, видовая диагностика на основании морфологических признаков и последовательности гена 16S рРНК, полногеномный анализ. Объектами исследования были актинобактерии из субстрата гнезд черного садового муравья (*Lasius niger*), кишечной микробиоты тропических многоножек класса *Diplopoda*, а также ассоциированные с личинками и имаго колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*). Антибиотическую активность определяли в отношении широкой панели бактерий и грибов, в том числе клинических изолятов с множественной лекарственной устойчивостью.

Результаты исследования. Анализ микробиоты кишечника многоножек показал большое видовое разнообразие актинобактерий. Было выделено 74 штамма прокариот, из них 58 актинобактерий, в том числе 14 представителей «редких» родов (*Actinoplanes, Agrococcus, Amycolatopsis, Arthrobacter, Herbiconiux, Kitasatospora, Lechevalieria, Microbacterium, Micrococcus, Micromonospora, Mycobacterium, Nocardiopsis, Plantactinospora, Saccharopolyspora*). В составе микробиоты кишечника колорадского жука впервые описаны: *Micromonospora phytophila*, *S. chartreusis*, *S. clavifer*, *S. microflavus, S. rishiriensis, S. badius* и *S. coelicoflaus*; у 4 видов антибиотическая активность описана впервые. Из гнезд муравьев выделен штамм ИНА 0156, который по предварительным данным относится к новому виду стрептомицетов, образует не менее двух антибиотиков, в том числе активен против *Klebsiella pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью.

Выводы. Разнообразие микроорганизмов в кишечных микробиотах беспозвоночных способствует отбору перспективных продуцентов антибиотиков. Для химического исследования активных веществ отобрано 6 штаммов, активных в отношении устойчивых форм патогенов. Выделенные и отобранные актинобактерии перспективны для дальнейшего химического изучения.

Список литературы.

1. J. Berdy. Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading. // The Journal of Antibiotics. 2012. 65. 385–395.
2. O’Neill J. The Review on Antimicrobial Resistance. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations, 2014
3. Ribosomal Database Project. Режим доступа: https://rdp.cme.msu.edu/

Механизм устойчивости рибосомного синтеза полифенилаланина к ингибированию эритромицином

Д.М. Жебов[1,2], А.А. Коммер[2], И.Г. Дашкова[2], В.А. Колб[2]

[1]Московский политехнический университет, г. Москва;

[2] Институт белка РАН, г. Пущино.

E-mail: den.zhebov@mail.ru

Многие клинически важные антибиотики блокируют белковый синтез, связываясь с бактериальной рибосомой. Одним из таких антибиотиков является эритромицин, который относится к группе макролидов.

В результате широкой практики применения макролидных антибиотиков возникли устойчивые к ним штаммы бактерий, поэтому поиск и создание новых препаратов из класса макролидов является важной задачей [1].

Механизм действия макролидов не до конца выяснен. Согласно одной предложенной модели действия, антибиотик является механическим препятствием для растущего пептида; согласно другой модели – эритромицин аллостерически изменяет пептидил-трансферазный центр, тем самым блокируя реакцию транспептидации [2].

Однако ни одна из предложенных моделей не может объяснить устойчивость рибосомного синтеза полифенилаланина к действию эритромицина [3].

В ходе настоящей работы были созданы бицистронные мРНК, в которых трансляция второго цистрона происходит по механизму реинициации. Белки, закодированные первым цистроном полученных мРНК, различались по наличию или отсутствию N-концевого удлинения из 5 аминокислотных остатков фенилаланина. Основная часть второго цистрона кодировала люциферазу, за синтезом которой наблюдали по накоплению её ферментативной активности.

Оказалось, что наличие олигофенилаланинового тракта на белке первого цистрона, повышает устойчивость синтеза белка второго цистрона к эритромицину, присутствующему в системе трансляции.

Полученные данные свидетельствуют о том, что механизм устойчивости синтеза полифенилаланина к действию эритромицина заключается в котрансляционном вытеснении антибиотика растущим пептидом.

Список литературы:

1. Seiple, I. B.; Zhang, Z.; Jakubec, P.; Langlois-Mercier, A.; Wright, P. M.; Hog, D. T.; Yabu, K.; Allu, S. R.; Fukuzaki, T.; Carlsen, P. N.; Kitamura, Y.; Zhou, X.; Condakes, M. L.; Szczypiński, F. T.; Green, W. D.; Myers, A. G. A platform for the discovery of new macrolide antibiotics. *Nature*. **2016**, *533* (7603), 338–345. DOI: 10.1038/nature17967

2. Vázquez-Laslop, N.; Mankin, A. S. How Macrolide Antibiotics Work. *Trends in biochemical sciences*. **2018**, *43*(9), 668–684. DOI: 10.1016/j.tibs.2018.06.011

3. Odom, O. W.; Picking, W. D.; Tsalkova, T.; Hardesty, B. The synthesis of polyphenylalanine on ribosomes to which erythromycin is bound. *European journal of biochemistry*. **1991**, *198*(3), 713–722. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1991.tb16071.x

Синтез функциональных производных гидроксамовых кислот, содержащих фрагмент 1,2,4-оксадиазола в качестве потенциальных ингибиторов биосинтеза липополисахарида бактерий

А.А. Жуковец[1], В.В. Чернышов[1], А.А. Анашкина[2], М.А. Касаткина[1], М.А. Юнин[1], Ю.Е. Исакова[1], А.И. Черкасова[1], Т.А. Серегина[2], С.В. Ревтович[2], Е.А. Морозова[2], В.В. Куликова[2], П.Н. Сольев[2], В.А. Митькевич[2], Р.А. Иванов[1]

[1]Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования Научно-технологический университет «Сириус», г Сочи;

[2]Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, г Москва.

E-mail: nastya.zhukovets0011@gmail.com

Липополисахарид (ЛПС) бактерий представляет собой поверхностный гликолипид, продуцируемый грамотрицательными бактериями и присутствующий в их внешней мембране, и состоящий из трёх основных компонентов – липида А, центрального олигосахарида и *O*-антигена. Липид А, являющийся гидрофобным якорем ЛПС, представляет собой привлекательную мишень для разработки как новых антибиотиков, так и потенциаторов действия уже известных антибиотиков, поскольку бактерии, лишённые липида А, как правило, нежизнеспособны, а мутанты со сниженным биосинтезом липида А чувствительны к широкому спектру антибиотиков. В данной работе в качестве мишени был выбран фермент LpxC, катализирующий первую стадию биосинтеза липида А.

В качестве потенциальных ингибиторов LpxC был синтезирован ряд гидроксамовых кислот **1a-f**, **2a-d**, **3a-d**, **4a-c**, содержащих ядро 1,2,4-оксадиазола, связанное с функциональной группой гидроксамовой кислоты напрямую либо через алифатический или ароматический линкер (Рисунок 1). Оценена цитотоксичность всех полученных соединений, исследовано их антибактериальное и потенцирующее действие в сочетании с различными антибиотиками в отношении клеточных линий *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*. Определены соединения-лидеры, проведены исследования их ADME свойств, а также установлены взаимосвязи структура-активность на основании полученных данных.

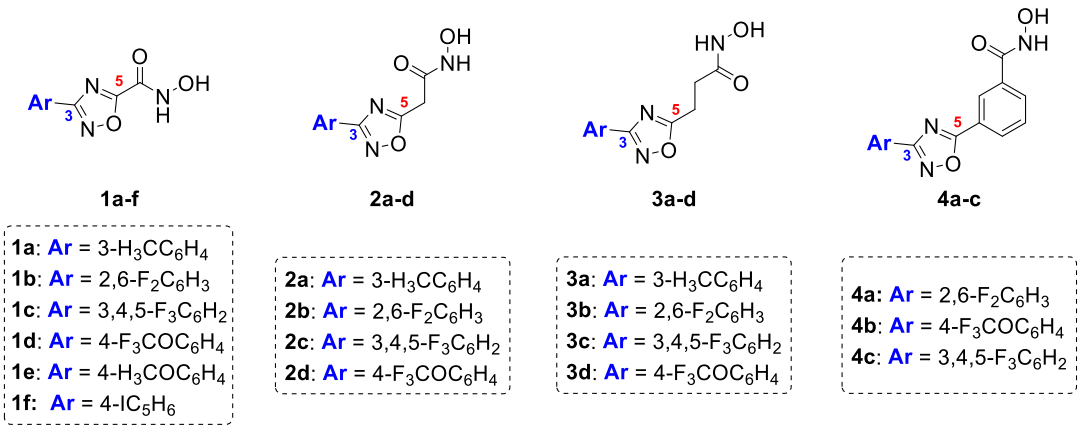


Рисунок 1. Обобщённые структуры полученных соединений

Благодарности: Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение No. 075-10-2021-113, уникальный идентификатор проекта RF----193021X0001). Авторы выражают благодарность Ресурсным Центрам Аналитических Методов и Медицинской химии за получение спектральных и аналитических данных.

Тое-сек – новый метод определения сиквенс-специфичности антибиотиков. Сиквенс-специфичность антибиотика этамицина А

П.А. Зотова[1], Е.С. Комарова[1,2], П.В. Сергиев[1,2], М.Р. Кабилов[3]

[1]Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, г. Москва;

[2]Сколковский институт науки и технологий, Сколково, Московская область;

[3]Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск.

E-mail: zotova.polinaa@gmail.com

Около половины известных антибиотиков подавляют процесс биосинтеза белка. Большинство из них подавляют трансляцию в целом, однако некоторые антибиотики останавливают синтез полипептидных цепей только определенного аминокислотного состава [1]. Это свойство получило название сиквенс-специфичность. Одним из методов, используемых для определения сиквенс-специфичности антибиотиков, является тоепринт [2]: он позволяет с точностью до нуклеотида определить положение рибосомы на мРНК, в котором произошла остановка трансляции. Однако тоепринт ограничен конкретной последовательностью мРНК, используемой в эксперименте.

Разработанный в нашей лаборатории метод тое-сек позволяет анализировать порядка 40000 матриц одновременно. Основой данного метода является тоепринт, который проводится с использованием библиотеки ДНК-матриц с рандомизированными кодирующими последовательностями, при этом образцы анализируются с помощью NGS-секвенирования. Это позволяет определить влияние антибиотика на трансляцию различных мРНК в одном эксперименте.

Новый метод был применен к нескольким антибиотикам, среди которых: хлорамфеникол, эритромицин, этамицин А, тетраценомицин Х. Данные для антибиотиков с известной сиквенс-специфичностью (хлорамфеникол, эритромицин) совпали с имеющимися литературными данными [3, 4]. По результатам тое-сек метода для антибиотика этамицина А была выбрана матрица с мотивом остановки трансляции (в направлении от N-конца к С-концу от Е до А-сайта: Val-Val-Lys), для которой были проведены аминокислотные замены, демонстрирующие влияние встраиваемых в пептидную цепь аминокислот на эффективность трансляции в присутствии антибиотика. Результаты и выводы будут представлены и обсуждены во время доклада.

Список литературы:

1. Wilson, D. The A–Z of bacterial translation inhibitors. *Biochemistry and Molecular Biology*. **2009**, *44*, 393-433. DOI: 10.3109/10409230903307311
2. Hartz, D.; McPheeters, D. S.; Traut, R.; Gold, L. Extension inhibition analysis of translation initiation complexes. *Methods in enzymology*. **1988**, *164*, 419-425. DOI: 10.1016/s0076-6879(88)64058-4
3. Choi, J.; Marks, J.; Zhang, J.; Chen, D.; Wang, J.; Vázquez-Laslop, N.; Mankin, A.; Puglisi, J. Dynamics of the context-specific translation arrest by chloramphenicol and linezolid. *Nat Chem Biol*. **2020**. *16*. 310-317. DOI: 10.1038/s41589-019-0423-2
4. Kannan K.; Kanabar P.; Schryer D.; Florin T.; Oh E.; Bahroos N.; Tenson T.; Weissman J.; Mankin A. The general mode of translation inhibition by macrolide antibiotics. *Proc Natl Acad Sci USA*. **2014**. *111*. 15958-15963. DOI: 10.1073/pnas.1417334111

Нафтилзамещенные индол- и пирролкарбоновые кислоты – ингибиторы бактериальной цистатионин-γ-лиазы

М.Д. Зыбалов, А.С. Кузовлев, А.В. Головин, М.А. Гуреев, М.А. Касаткина, М.В. Бирюков, М.А. Юнин, Р.А. Иванов

Научный центр трансляционной медицины, Университет «Сириус», г. Сочи

E-mail: zybalov.mikhail@gmail.com

В последние десятилетия усиливающаяся резистентность патогенных бактерий к действию антибиотиков первой линии терапии становится серьезным вызовом для всего человечества: либо мы разработаем новые средства борьбы с патогенными бактериями, либо к летальному исходу будут приводить даже самые незначительные на данный момент заболевания. Разработка потенциаторов антибиотиков является альтернативой сложному процессу поиска новых противомикробных препаратов [1]. На выработку H_2S — одного из главных защитных механизмов, имеющих решающее значение для выживания бактерий при возникновении окислительного стресса, обусловленного введением антибиотика, —влияет ингибирование бактериальной цистатионин-γ-лиазы (bCSE), которая вносит основной вклад в этот процесс [2].

Наша исследовательская работа посвящена синтезу, *in silico* моделированию, анализу ферментативной и антибактериальной активности нафтилзамещенных индол- и пирролкарбоновых кислот, выявлению лидерного соединения и анализу его ADMET-свойств. Лидерное соединение проявляет значительную потенцирующую активность при применении в комбинации с некоторыми широко используемыми антибиотиками против *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*. Высокая эффективность и безопасность лидерной молекулы делает ее многообещающим кандидатом для совместного применения с антибиотиками против клинически значимых резистентных штаммов микроорганизмов.

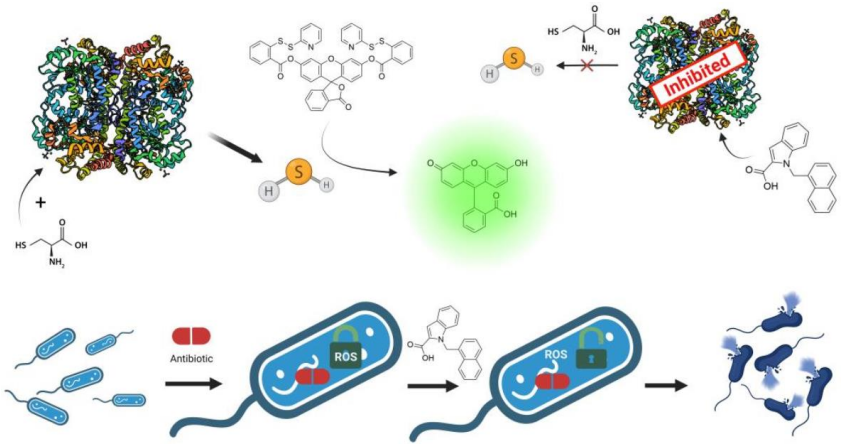


Рисунок 1. Графическое представление работы

Список литературы:

1. Douafer, H.; Andrieu, V.; Phanstiel, O.; Brunel, J. M. Antibiotic Adjuvants: Make Antibiotics Great Again! *J.Med.Chem* **2019**, *62* (19), 8665–8681. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b01781.

2. Shatalin, K.; Nuthanakanti, A.; Kaushik, A.; Shishov, D.; Peselis, A.; Shamovsky, I.; Pani, B.; Lechpammer, M.; Vasilyev, N.; Shatalina, E.; Rebatchouk, D.; Mironov, A.; Fedichev, P.; Serganov, A.; Nudler, E. Inhibitors of Bacterial H2S Biogenesis Targeting Antibiotic Resistance and Tolerance. *Science* **2021**, *372* (6547), 1169–1175. DOI: 10.1126/science.abd8377.

Благодарности: работа выполнена при поддержке программы Министерства высшего образования и науки РФ (соглашение № 075-10-2021-113, уникальный номер проекта RF-193021X0001).

Фрагментированные по С-кольцу ангуциклины: химический синтез и биосинтез

В.А. Иконникова[1,2], А.А. Михайлов[2]

[1]Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева, Высший химический колледж РАН, г. Москва;

[2]Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, г. Москва.

E-mail: victoriaikonnikova@yandex.ru

Глобальный рост антибиотикорезистентности вынуждает человечество искать новые вещества, которые будут проявлять новые механизмы воздействия на патогенные бактерии. Ангуциклины являются одним из крупнейших классов вторичных метаболитов стрептомицетов, синтезируемых поликетидсинтазой-II. Эти соединения проявляют антибактериальную и противораковую активность, однако не были внедрены в практику, вероятно, из-за проблем с растворимостью и ряда побочных эффектов. При этом их можно назвать перспективными с точки зрения борьбы с антибиотикорезистентностью из-за большого разнообразия структур, получающихся в ходе окислительных пост-поликетидсинтазных модификаций. В рамках нашего исследования мы провели изучение до недавнего времени малоизученных ангуциклинов, в которых хиноновое кольцо С фрагментируется под действием ферментов [1]. Такие соединения обладают гораздо лучшей растворимостью в воде, однако, проявляют значительно меньшую антибактериальную активность.

Мы пересмотрели биосинтез фрагментированных по С-кольцу ангуциклинов с точки зрения того, что такие производные можно рассматривать как продукты защитного механизма бактерий от самоинтоксикации, и определили их ключевой биосинтетический предшественник. Также нами был осуществлен химический синтез выбранных производных для создания библиотек соединений и выявления структурных мотивов, ответственных за активность антибиотиков [2]. В докладе будут рассмотрены наши успехи в синтезе и перспективные направления.

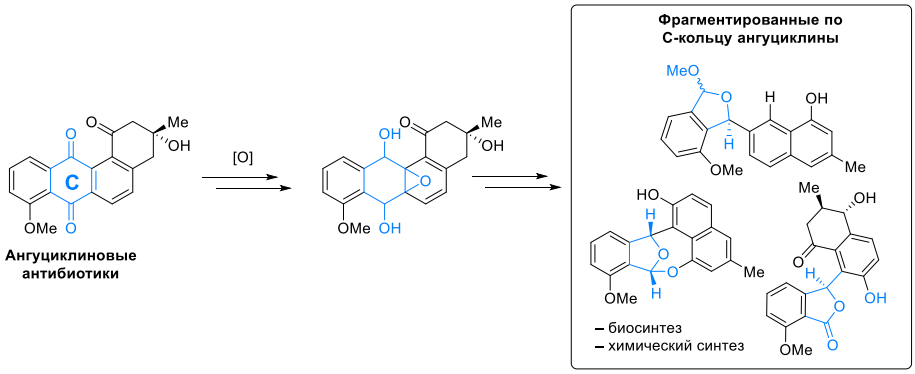


Схема 1. Перегруппированные по С-кольцу ангуциклины

Список литературы:

1. Mikhaylov, A. A.; Ikonnikova, V. A.; Solyev, P. N. Disclosing Biosynthetic Connections and Functions of Atypical Angucyclinones with a Fragmented C-Ring. *Nat. Prod. Rep.* **2021**, *38* (8), 1506–1517. DOI: 10.1039/D0NP00082E.

2. Ikonnikova, V. A.; Solyev, P. N.; Terekhov, S. S.; Alferova, V. A.; Tyurin, A. P.; Korshun, V. A.; Baranov, M. S.; Mikhaylov, A. A. Total Synthesis of Elmenols A and B and Related Rearranged Angucyclinones. *ChemistrySelect* **2021**, *6* (42), 11775–11778. DOI: 10.1002/SLCT.202103755.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке гранта президента РФ (МК-736.2021.1.3).

Выделение и характеризация двух новых пептидных антибактериальных соединений из культуральных жидкостей штаммов *Streptomyces sp. 44182 и 37078*

А.О. Каракчиева[1], И.А. Волынкина[1,2], А.А. Никандрова[2], В.А. Алферова[3], Ю.В. Закалюкина[1,4], М.В. Бирюков[2,4], В.Н. Ташлицкий[1], Д.А. Лукьянов[1,2], П.В. Сергиев[1,2], О.А. Донцова[1,2,3], И.А. Остерман[1,2]

[1]Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва;

[2]Центр наук о жизни Сколковского института науки и технологий, г. Москва;

[3]Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, г. Москва;

[4]Центр трансляционной медицины научно-технологического университета «Сириус», г. Сочи.

E-mail: karakchievaa21@gmail.com

Возникновение и быстрое развитие резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам является одной из важнейших проблем современной науки и медицины. Одним из возможных решений может послужить поиск новых антибактериальных соединений, которые, как известно, могут быть выделены из почвенных бактерий-продуцентов [1].

Ранее нами был разработан и оптимизирован метод скрининга, выделения и идентификации потенциально новых антибиотиков в ходе проекта гражданской науки [2]. Данный подход был успешно применен на практике, выявив два штамма актиномицетов, *Streptomyces sp. 44182* и *37078*, продуцирующих биоактивные соединения пептидного строения, не описанные ранее в литературе. Для выделения чистого препарата активного вещества культуральные жидкости были подвергнуты твердофазной экстракции на сорбенте LPS-500-H, с последующим хроматографическим разделением методом ОФ-ВЭЖХ и проверкой собранных фракций на предмет антибиотической активности с помощью репортерной системы. Были подобраны оптимальные условия проведения хроматографии с целью выделения чистого активного компонента. Затем полученные фракции были проанализированы с помощью масс-спектрометрии высокого разрешения (HRMS) в режимах положительной и отрицательной ионизации ионов.

Таким образом, было обнаружено, что два штамма *Streptomyces sp. 44182* и *37078* продуцируют биологически активные соединения со сходными спектрами фрагментации и точными массами: 2154,736 Да и 2168,763 Да соответственно. Поиск по базам данных химических веществ не дал совпадений по этим соединениям. Разница в массе указывает на отличие этих молекул на гомологическую разницу CH_2. Дополнительный масс-спектрометрический анализ MALDI-TOF однозначно подтвердил пептидную природу новых антибиотиков и позволил выявить их принадлежность к лассо-пептидам.

Список литературы:

1. De Simeis D.; Serra S.; *Actinomycetes*: A Never-Ending Source of Bioactive Compounds-An Overview on Antibiotics Production. *Antibiotics (Basel).* **2021**, *10 (5),* 483−515. DOI: 10.3390/antibiotics10050483.
2. Volynkina I.A.; Zakalyukina Y.V.; Alferova V.A.; Belik A.R.; Yagoda D.K.; Nikandrova A.A.; Buyuklyan Y.A.; Udalov A.V.; Golovin E.V.; Kryakvin M.A.; Lukianov D.A.; Biryukov M.V.; Sergiev P.V.; Dontsova O.A.; Osterman I.A.; Mechanism-Based Approach to New Antibiotic Producers Screening among Actinomycetes in the Course of the Citizen Science Project. *Antibiotics (Basel).* **2022**, *11 (9),* 1198−1215. DOI: 10.3390/antibiotics11091198.

Благодарности: грант Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № 075–15-2021-1085).

Молекулярные механизмы, ассоциированные с повышенной устойчивостью к антибиотикам у бактериальных штаммов, выделенных на Международной космической станции

Д.С. Карпов[1], П.Д. Осипова[2], М.А. Ковалев[1], А.В. Снежкина[1], А.В. Кудрявцева[1], Д.В. Попов[2], А.А. Дымова[2], К. А. Шеф[2], Е.А. Жукова[2], А.А. Гуридов[2], С.В. Поддубко[2]

[1]Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, г. Москва;
[2]Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, г. Москва.

E-mail: aleom@yandex.ru

Искусственные условия жизнедеятельности на Международной космической станции (МКС) соответствуют потребностям человека. Однако воздействие факторов космического пространства приводит к ослаблению иммунной системы космонавтов (1). Замкнутое пространство МКС способствует росту микроорганизмов, которые поступают в герметичный объем вместе с экипажами и доставляемыми грузами с Земли. Гипотетически, в период длительных миссий у космонавтов могут, обнаруживаться признаки инфекционных заболеваний (2), что обусловлено снижением иммунитета у членов экипажа и наличием в среде обитания условно-патогенных видов бактерий. (3). В условиях космического полета у бактерий повышается вирулентность (4), а также устойчивость к антибиотикам (5). Актуален вопрос изучения молекулярных механизмов, ассоциированных с повышенной резистентностью к антибиотикам у бактерий, выделенных на МКС. Обсуждаются молекулярные механизмы, ассоциированные с повышенной устойчивостью к антибиотикам у бактерий населяющих МКС. Рассмотрен вклад отдельных факторов космического пространства, таких как повышенный радиационный фон, микрогравитация и гипомагнитное поле.

Список литературы:

1. Рыкова М.П. Иммунная система у российских космонатов после орбитальных полетов // Физиология человека. 2013. Т. 39. № 5. С. 126–136.
2. Crucian, B., Babiak-Vazquez, A., Johnston, S., Pierson, D. L., Ott, C. M., & Sams, C. (2016). Incidence of clinical symptoms during long-duration orbital spaceflight. International journal of general medicine, 9, 383–391. https://doi.org/10.2147/IJGM.S114188
3. Simões, M. F., & Antunes, A. (2021). Microbial Pathogenicity in Space. Pathogens (Basel, Switzerland), 10(4), 450. https://doi.org/10.3390/pathogens10040450
4. Wilson, J. W., Ott, C. M., Höner zu Bentrup, K., Ramamurthy, R., Quick, L., Porwollik, S., Cheng, P., McClelland, M., Tsaprailis, G., Radabaugh, T., Hunt, A., Fernandez, D., Richter, E., Shah, M., Kilcoyne, M., Joshi, L., Nelman-Gonzalez, M., Hing, S., Parra, M., Dumars, P., Nickerson, C. A. (2007). Space flight alters bacterial gene expression and virulence and reveals a role for global regulator Hfq. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 104(41), 16299–16304. https://doi.org/10.1073/pnas.0707155104
5. Aunins, T. R., Erickson, K. E., Prasad, N., Levy, S. E., Jones, A., Shrestha, S., Mastracchio, R., Stodieck, L., Klaus, D., Zea, L., & Chatterjee, A. (2018). Spaceflight Modifies Escherichia coli Gene Expression in Response to Antibiotic Exposure and Reveals Role of Oxidative Stress Response. Frontiers in microbiology, 9, 310. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00310

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (контракт в системе электронный бюджет № 075-10-2021-113, ID проекта: RF----193021X0001).

Исследование бактерицидной активности производного четвертичных аммониевых солей in vitro в отношении грамположительных/грамотрицательных бактерий

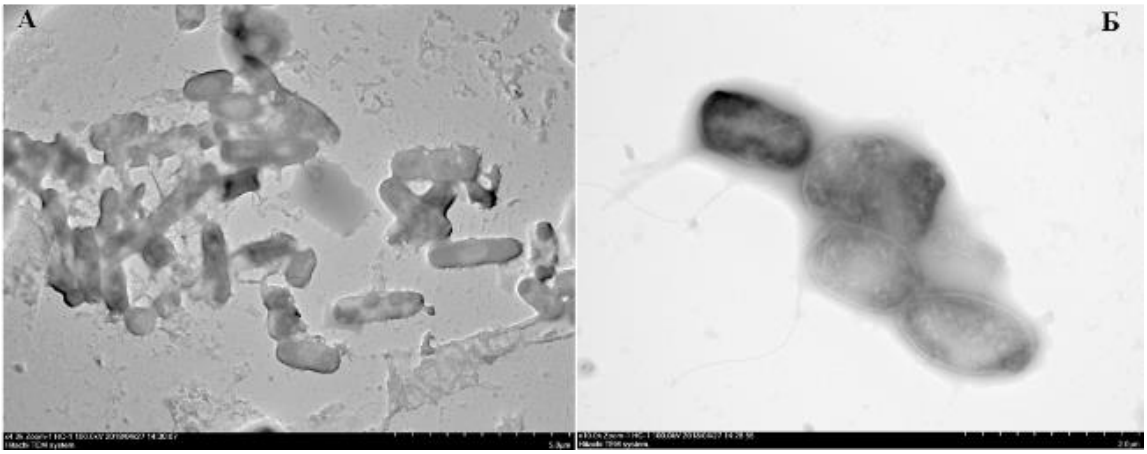
Е.Д. Кобылинская, М.Н. Агафонова, Е.С. Крылова, Н.В. Штырлин, С.В. Сапожников, Ю.Г. Штырлин

Научно-образовательный центр фармацевтики, Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, г. Казань

E-mail: EDKobylinskaya@stud.kpfu.ru

Антисептики и дезинфектанты являются не только неотъемлемой частью жизни человека в качестве антимикробных средств, но и играют важную роль для контроля над возникновением и распространением различных инфекционных заболеваний. В этой связи разработка препаратов, обладающих высокой антибактериальной активностью, в том числе против резистентных микроорганизмов, является актуальной задачей современного здравоохранения. Целью данного исследования являлось изучение бактерицидной активности полученного ранее в нашей исследовательской группе [патент РФ №2641309, № 2017126302], четвертичной аммониевой соли, содержащей фрагменты пиридоксина.

В ходе исследования *in vitro*, с помощью теста на металлической поверхности, была показана высокая бактерицидная активность исследуемого соединения (lgRf 6-8, время воздействия 5,15 мин, концентрация 0.2%) в отношении музейных и клинических штаммов грамположительных (*Staphylococcus aureus*) и грамотрицательных (*Escherichia coli*) бактерий. Рисунок 1: на примере *Escherichia coli* показаны повреждения клеток после воздействия исследуемого соединения: изменения формы, морфологии, лизис клеток и выход содержимого.



«Рис. 1. Микрофотографии клеток *Escherichia coli* ATCC 25922 после воздействии изучаемого пре-парата полученные с помощью ТЭМ, увеличение изображений в 4000 раз (А) и 10000 раз (Б)»

Список литературы: Trust, H.M. Review on Antimicrobial Resistance. Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for the Health and Wealth of Nations / Review on AMR, Wellcome Trust, HM // Government: London, UK. – 2014. Available online: http://www.jpiamr.eu/wp-content/uploads/2014/12/AMR-Review-Paper-Tackling-a-crisis-for-the-healthand-wealth-of-nations_1-2.pdf (accessed on 20 July 2020).

Благодарности: Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности №FZSM-2022-0018.

Синтез и исследование антибактериальной активности новых азаспироциклических соединений

К.Ю. Комарова, Д.А.Денискин, А.Ю. Лукин

МИРЭА – Российский технологический университет, институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, г. Москва

E-mail: kristinka-komarova.1999@mail.ru

Сегодня разработка новых антибиотиков для борьбы с лекарственной устойчивостью является актуальной задачей во всем мире. В литературе был показан синтез ранее неописанного соединения 1 [1], проявившего значительную антибактериальную активность в отношении устойчивых штаммов бактерии группы Mycobacterium tuberculosis. Это подтолкнуло нас на синтез серии подобных соединений, содержащих в своей структуре азаспироциклический мотив, минуя многостадийный синтез, применив атом-экономичный подход. В результате был получен ряд новых веществ, имеющих в своей структуре 1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекановый фрагмент и активных в отношении мультирезистентных штаммов возбудителя туберкулёза.

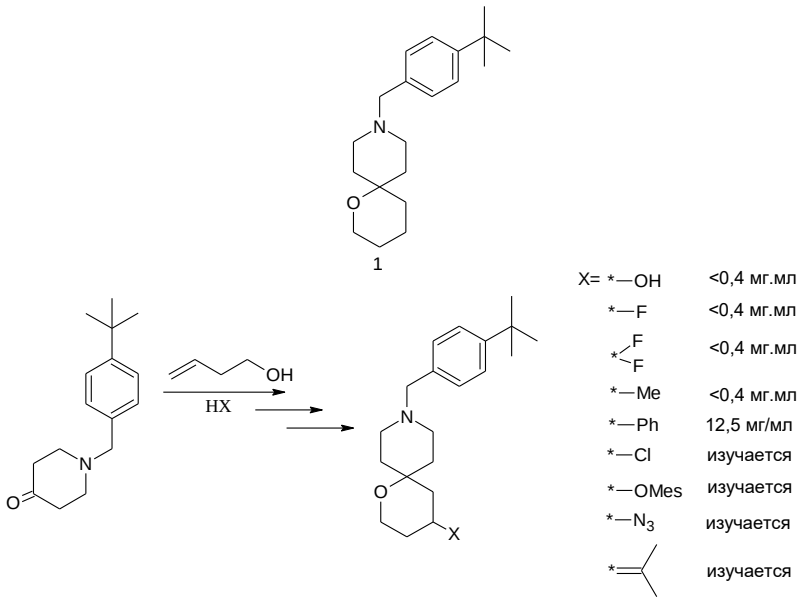


Схема 1. Синтез производных 1-окса-9-азаспиро[5.5]ундекана

Список литературы:

1. Guardia A., Baiget J., Cacho M., Pérez A. Easy-to-synthesize spirocyclic compounds possess remarkable in vivo activity against mycobacterium tuberculosis. Med. Chem. 2018(61), 11327-11340. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b01533
2. Lukin, A.; Bagnyukova, Kalinchenkova, N.; Zhurilo, N.; Krasavin. M. Spirocyclic Amino Alcohol Building Blocks Prepared via a Prins-Type Cyclization in Aqueous Sulfuric Acid. Tetrahedron Lett. 2016, 57, 3311-3314. DOI: 10.1016/j.tetlet.2016.06.054
3. Lukin, A.; Komarova, K.; Vinogradova, L.; Rogacheva, E.; Kraeva, L.; Dogonadze, M.; Vinogradova, T.; Krasavin, M. Urea derivatives of spirocyclic piperidines endowed with antibacterial activity. Mendeleev Commun., 2023, 33, 109-111. DOI: 10.1016/j.mencom.2023.01.034

Благодарности: работа выполнен при поддержке министерства науки и высшего образования РФ (грант FSFZ-2023-0004).

Терпентинное масло повышает эффективность и стабильность скваленовых ультраэмульсий

О.А. Краснова[1], В.В. Минайчев[1], К.С. Краснов[1], И.С. Фадеева[1,2]

[1]Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино;

[2]Пущинский филиал «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», г. Пущино.

E-mail: okras.iteb@gmail.com

В связи с неоднократными вспышками таких зоонозов, как SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2, человечество сталкивается с проблемой нехватки антигенов для обеспечения вакцинами всех групп населения. В решении этого вопроса на помощь приходят адъюванты, повышающие эффективность вакцин [1]. В России в этих целях традиционно используют квасцы алюминия – дешевый и доступный, но крайне токсичный материал, активирующий иммунитет в том числе за счет некроза клеток в месте инъекции [2]. Скваленовые эмульсии MF59 и AS03 обладают эталонным профилем безопасности и превосходят алюминиевые квасцы по уровню иммунологической активности, однако из-за высокой стоимости сквалена они не пригодны для широкого применения [3]. В связи с этим крайне необходим поиск способов увеличения эффективности и стабильности препаратов сквалена для снижения его дозы в эмульсиях и, как следствие, стоимости эмульсий.

В лаборатории ИТЭБ РАН разработана и получена методом гомогенизации высокого давления монодисперсная ультраэмульсия сквалена с добавлением 1% терпентинного масла со средним размером частиц 167±45 нм. В исследованиях *in vivo* показано, что терпентинное масло улучшает адъювантные свойства MF59, минимум в 4 раза повышая титр ксеноспецифичных антител в крови иммунизированных лабораторных животных. Методом анализа дифференциальной экспрессии генов установлено, что терпентин активирует синтез метаболитов арахидоновой кислоты – активаторов клеток врожденного иммунитета, что указывает также на собственные иммуностимулирующие свойства терпентина.

В исследованиях стабильности скваленовых эмульсий в динамике сроков хранения выявлено, что в MF59 после 2 лет экспозиции значительно увеличивается вклад крупнодисперсной фракции, что говорит о возможном появлении примесей и дестабилизации системы, в то время как для эмульсии терпентина подобного эффекта не отмечено. Таким образом, терпентинное масло обладает стабилизирующим эффектом, при этом достоверно не оказывая влияния на физико-химические характеристики MF59: средние значения дзета-потенциала, индекса полидисперсности, pH, динамической вязкости и плотности составили –3,4±0,2 мВ, 0,27±0,02, 5,98±0,01, 1,180 ± 0,007 сП и 0,993 г/мл соответственно, что соизмеримо с показателями воды и цитратного буфера и оптимально для парентерального введения.

Помимо этого, при смешивании и совместном хранении инактивированной вакцины с эмульсией терпентина методом ИК-спектроскопии не выявлено изменения антигенов или образования новых веществ. Таким образом, разработанная рецептура обладает высоким потенциалом применения в качестве адъюванта отечественных вакцин.

Список литературы:

1. O'Hagan, D.T., Fox, C.B. New generation adjuvants--from empiricism to rational design. *Vaccine*. **2015**, *33(*2), 14-20. DOI:10.1016/j.vaccine.2015.01.088;
2. Lee, S.M., Kim, P, You, J, Kim, E.H. Role of Damage-Associated Molecular Pattern/Cell Death Pathways in Vaccine-Induced Immunity. *Viruses*. **2021,** *13*(12), 2340. DOI:10.3390/v13122340;
3. Zheng, D, Gao, F, Zhao, C, et al. Comparative effectiveness of H7N9 vaccines in healthy individuals. *Hum Vaccin Immunother*. **2019**, *15*(1), 80-90. DOI:10.1080/21645515.2018.1515454.

Оценка активности меропенема в отношении *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* до и после приобретения плазмид резистентности

А.А. Кузнецова[1], Н.А. Петрова[2], М.А. Пертова[2], М.В. Голикова[1]. К.Н. Алиева[1], Д.А. Кондратьева[1]

[1]Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе», г. Москва;

[2]Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», г. Москва.

E-mail: biolisichka@gmail.com

Распространение среди патогенных бактерий штаммов с плазмидами резистентности к антибиотикам – серьёзная проблема, затрудняющая антибиотикотерапию. Мы оценили активность меропенема в отношении чувствительных к нему штаммов *Escherichia coli* C600 и *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, не продуцирующих карбапенемазы (реципиенты), а также их вариантов с плазмидами резистентности, несущими гены карбапенемаз (трансконъюганты, ТК), полученных при конъюгации с клиническими штаммами *K. pneumoniae* (доноры плазмид). Минимальную подавляющую концентрацию меропенема определяли методом микроразведений с инокулятом 5×10^5 КОЕ/мл (МПК) и 5×10^7 КОЕ/мл ($МПК_{ВИ}$). Значения МПК меропенема в отношении ТК (0,25-4 мкг/мл) оказались значительно ниже, чем таковые у доноров плазмид (64 и 32 мкг/мл), но выше (в 8-128 раз), чем у реципиентов (0,03 мкг/мл) (Рисунок 1). Относительно более высокими значениями МПК меропенема характеризовались ТК с плазмидой, несущей гены KPC-карбапенемазы, чем гены OXA-48-карбапенемазы (МПК 1-4 против 0,25-0,5 мкг/мл, соответственно). 3 из 4 штаммов ТК были охарактеризованы как чувствительные к меропенему; при оценке $МПК_{ВИ}$ ТК с OXA-48-карбапенемазами были отнесены в группу промежуточно чувствительных к меропенему, а ТК с KPC-карбапенемазами – в группу устойчивых к меропенему. Согласно полученным результатам, уровень устойчивости ТК к меропенему в первую очередь определялся классом карбапенемазы, гены которой находились на плазмиде, но не видом бактерии реципиента. Несмотря на невысокие значения МПК меропенема в отношении штаммов ТК, наличие плазмид, обеспечивающих синтез KPC-карбапенемаз, и высокая микробная нагрузка в очаге инфекции могут привести к неэффективности терапии меропенемом.

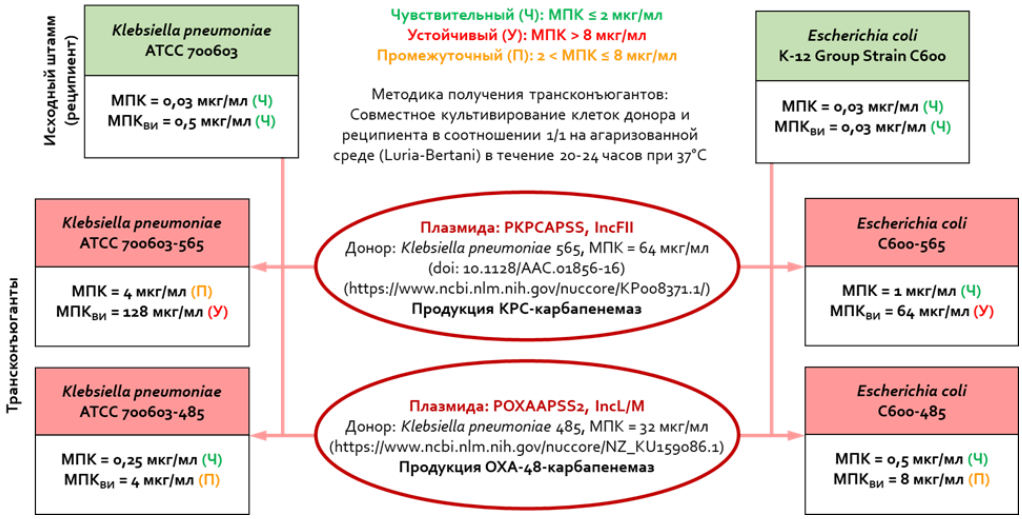


Рисунок 1. Изменение чувствительности бактерий к меропенему при получении плазмид резистентности, обеспечивающих синтез карбапенемаз.

Благодарности: Исследование проведено благодаря финансовой поддержке Российского научного фонда (грант РНФ № 23-25-00525).

Применение репортерной системы для поиска антибиотиков. Определение механизмов действия найденных соединений

Д.А. Лукьянов[1,2], А.А. Никандрова[1], А.Н. Имамутдинова[1,2], И.А. Волынкина[1,2], Чернышова А.П. [1,2], М.А. Кряквин[3], И.А. Остерман[1,2], О.А. Донцова[1,2,4,5], П.В. Сергиев[1,2,4]

[1]Сколковский институт науки и технологий, г. Москва;

[2]Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Химический факультет, г. Москва;

[3]Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, г. Москва;

[4]Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, г. Москва;

[5]Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, г. Москва.

E-mail: D.Lukianov@skoltech.ru

Пандемия короновируса 2020-2023 года показала незащищенность человечества перед патогенами. Кроме основного ущерба здравоохранению, нанесенного пандемией, отмечается так же и существенный рост резистентности бактерий к используемым лекарственным препаратам. Таким образом задача поиска новых антибиотиков остро стоит перед современной наукой.

В нашей лаборатории была разработана репортреная система позволяющая высокопроизводительно сортировать антибиотики по механизму действия. Репортерная система работает по следующему принципу (рис.1): если соединение ингибирует синтез белка в клетке, это приводит к синтезу дальнекрасного флуоресцентного белка (Katushka2S). ДНК повреждающие соединения активируют SOS-ответ в клетке, что приводит к запуску экспрессии гена красного флуоресцентного белка (TurboRFP).

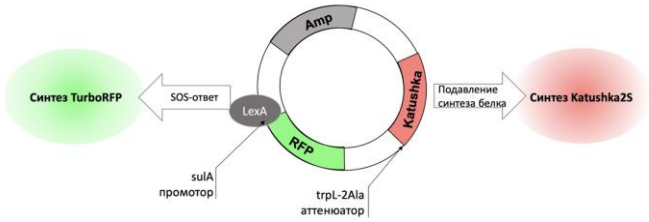


Рисунок 1. Принцип действия репортерной системы pDualrep2

Для поиска новых антибиотиков были использованы гиперчувствительные к антибиотикам штаммы *E. coli* JW5503 с удаленным геном эффлюксной помпы *tolC* (Δ*tolC*) и *E. coli* с мутацией в гене отвечающим за синтез липополисахарида *lptD* (*lptD*^{mut}) трансформированные репортерной плазмидой pDualrep2.

В нашей лаборатории был произведен масштабный поиск веществ с антибиотической активностью при помощи репортерной системы pDualrep2. Было проверено более 60000 индивидуальных химических соединений из химических библиотек. В результате была обнаружена молекула, индуцирующая трансляционную часть репортерной системы и ингибирующая биосинтез белка.

В ходе скрининга природных объектов были найдены продуценты таких антибиотиков как аурапланин, тетраценомицин X, алтиомицин, нибомицин и других. Далее были подобраны условия выделения этих антибиотиков и описан их молекулярный механизм действия.

Таким образом данная система показала свою эффективность как инструмент поиска новых соединений с антибиотической активностью и уточнения механизма действия уже известных соединений. Данное исследование было профинансировано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-1085).

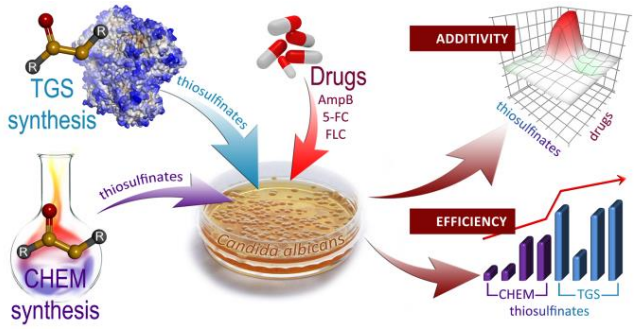
Ферментативная система получения биологически активных тиосульфинатов

А.Д. Лыфенко, С.В. Ревтович, Я.В. Ткачев, В.С. Коваль, В.М. Пучков, В.В. Куликова, Н.В. Ануфриева, Е.А. Морозова, П.Н. Сольев

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, г. Москва

E-mail: lyfenkoanna@yandex.ru

Способность полимикробных инфекций образовывать биопленки, особенно грибково-бактериальные, является основной причиной пост-хирургических заболеваний, приводящих к высокому проценту смертности ввиду сложности их терапии. Тенденция к формированию полимикробных биопленок условно-патогенными микробами *Candida albicans* и *Staphylococcus aureus* на медицинских имплантатах приводит к росту частоты кандидозной и стафилококковой инфекции при использовании имплантированных медицинских устройств. Поиск новых потенциальных антибиотиков, способных оказывать одновременно антибактериальное и противогрибковое действие, является актуальной задачей современной науки.



В настоящей работе исследован противогрибковый потенциал ферментативной системы получения диалк(ен)илтиосульфинатов (ФС) *in situ* в сравнении с синтетическими диалк(ен)илтиосульфинатами. Методом ^{1}H ЯМР-спектроскопии были исследованы кинетические аспекты образования диалк(ен)илтиосульфинатов в результате реакции β-элиминирования сульфоксидов S-алк(ен)ил-L-цистеина, катализируемой пиридоксаль-5'-фосфат зависимым ферментом метионин-γ-лиазой. Противогрибковое действие этой системы в сравнении с синтетическими тиосульфинатами было оценено на культуре *C. albicans* (АТСС 10231). Показано, что ФС обладает более высокой антикандидозной активностью (диапазон МИК 0,36-1,1 мкг/мл) по сравнению с индивидуальными синтетическими веществами (диапазон МИК 0,69-3,31 мкг/мл). При совместном применении исследуемых веществ с коммерческими антимикотиками флуконазолом, амфотерицином В и 5-флуцитозином наблюдался аддитивный эффект. Индекс фракционной ингибирующей концентрации варьировался в диапазоне 0,5-2 мкг/мл. Наблюдаемый эффект может быть объяснен наличием множества мишеней в клетке патогенна для действия тиосульфинатов – окисления тиоловых групп белков и пептидов и глутатиона. Обособленность тиосульфинатов от конкретной белковой мишени в клетке патогена, делает маловероятным возникновение мутантных штаммов резистентных к ним.

Преимуществом использования двухкомпонентных систем для лечения микробных инфекций является возможность регулирования количества образующихся действующих веществ, и, как следствие, снижение вызываемых ими побочных эффектов.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант №23-24-00151).

Модифицированные пиримидиновые нуклеозиды как ингибиторы микроорганизмов

Д.А. Макаров[1], М.В. Ясько[1], И.Л. Карпенко[1], О.В. Ефременкова[2], Б.Ф. Васильева[2], А.А. Жгун[3], Л.А. Александрова[1], С.Н. Кочетков[1]

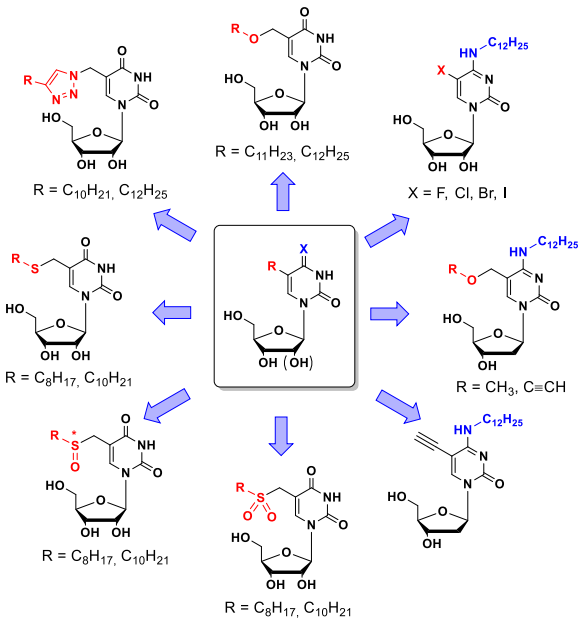
[1]Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, г. Москва;

[2]Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва, Россия 119021, г. Москва;

[3]Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, г. Москва.

E-mail: dmitmakarov_97@mail.ru

Синтезирован репрезентативный набор производных пиримидиновых нуклеозидов, содержащих объёмные алкильные заместители в 4 или 5 положениях азотистого основания. Изучена их активность в отношении ряда бактерий, а также плесневых грибов-декструкторов объектов культурного наследия.



Показано, что синтезированные производные в зависимости от положения и природы заместителя эффективно ингибируют рост ряда грамположительных бактерий, включая лекарственно-устойчивые штаммы *Staphylococcus aureus* и *Mycobacterium smegmatis* с активностью, сравнимой с некоторыми применяемыми в медицинской практике антибиотиками (для наиболее активных соединений $МИК_{99}$ составляет 8-20 мкг/мл), а также штаммы плесневых грибов-биодеструкторов. Выявлена зависимость биологической активности от природы и положения заместителя в пиримидиновом фрагменте.

Список литературы:

1. Makarov, D.A. et al. *ChemMedChem*. **2023**, 18, 18, e202300366. DOI: 10.1002/cmdc.202300366.
2. Alexandrova, L.A. et al. *Eur. J. Med. Chem*. **2021**, 215, 113212. DOI: 10.1016/j.ejmech.2021.113212.
3. Alexandrova, L.A. et al. *New J. Chem*. **2022**, 46, 12, 5614-5626. DOI: 10.1039/D1NJ04312A

Благодарности: Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-14-00106

Синтез производных гидроксамовых кислот, содержащих 1,3,4-оксадиазольный остов в качестве потенциальных ингибиторов биосинтеза липополисахаридов клеточной стенки грамотрицательных бактерий

Т.А. Маннанов[1], А.З. Альмухаметов[1], А.А. Анашкина[2], М.А. Касаткина[1], М.А. Юнин[1], Ю.Е. Исакова[1], Т.А. Серегина[2], С.В. Ревтович[2], Е.А. Морозова[2], В.В. Куликова[2], П.Н. Сольев[2], В.А. Митькевич[2], Р.А. Иванов[1]

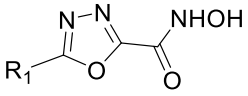
[1]Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования Научно-технологический университет «Сириус», г. Сочи;

[2]Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, г. Москва.

E-mail: tim.mann@yandex.ru

Препятствие биосинтезу липополисахаридов (ЛПС), образующих внешнюю мембрану клеточной оболочки грамотрицательных бактерий, может усиливать клеточную активность существующих антибактериальных препаратов за счет увеличения проницаемости, что особенно актуально в свете увеличения числа антибиотикорезистентных штаммов. В данной работе в качестве мишени был выбран фермент LpxC (UDP-3-O-(R-3-гидроксимиристоил)-N-ацетилглюкозамин деацетилаза) – металлофермент, катализирующий первую стадию биосинтеза липида А (компонента ЛПС), являющийся консервативным для грамотрицательных бактерий и не имеющий гомолога у человека.

В качестве потенциальных ингибиторов LpxC был синтезирован ряд гидроксамовых кислот **1a-g,** содержащих ядро 1,3,4-оксадиазола (Рисунок 1). Выбор оксадиазольного цикла в качестве гетероциклического фрагмента связан, с одной стороны, с их широкой распространенностью в биологически активных соединениях, с другой стороны, с доступностью синтеза. Оценена цитотоксичность всех полученных соединений, исследовано их антибактериальное и потенцирующее действие в сочетании с различными антибиотиками. Определены соединения-лидеры, проведены исследования их ADME-свойств, а также установлены взаимосвязи структура-активность на основании полученных данных.



1a-g

1a: R_1 = 2,3-$(CH_3O)_2C_6H_3$
1b: R_1 = 2,4-$(CH_3O)_2C_6H_3$
1c: R_1 = 3,4-$(CH_3O)_2C_6H_3$
1d: R_1 = 3-IC_6H_4
1e: R_1 = 4-IC_6H_4
1f: R_1 = 2-H_3C-4-FC_6H_3
1g: R_1 = N-$CH_3C_8H_6N$

Рисунок 1. Обобщённые структуры полученных соединений

Благодарности: Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение No. 075-10-2021-113, уникальный идентификатор проекта RF----193021X0001). Авторы выражают благодарность Ресурсным Центрам Аналитических Методов и Медицинской химии за получение спектральных и аналитических данных.

Исследование антибиотикорезистентности в рамках курса «Изучение микробиомов и молекулярные основы резистентности микроорганизмов» на базе Новосибирского Химико-Технологического Колледжа им. Д.И. Менделеева

А.В. Медведева, В.Д. Витковская, М.И. Шматова, С.А. Косьянова, Ю.В. Фархетдинова

Государственное бюджетное профессиональное образовательное учреждение Новосибирской области «Новосибирский химико-технологический колледж им. Д.И. Менделеева»

E-mail: Kironem@yandex.ru

В рамках гранта Министерства науки и высшего образования РФ была разработана универсальная модель сетевого исследовательского проекта, которая меняет подход к исследованию антибиотикорезистентности и нацелена на массовое участие учебных заведений. Целью проекта является создание карты распространения антибиотикорезистентности с сопутствующей базой данных. В Новосибирской области сетевое взаимодействие было налажено между Новосибирским государственным аграрным университетом, предоставившим образцы фекалий сельскохозяйственных животных и Новосибирским химико-технологическим колледже им. Д.И. Менделеева, на базе которого проводились исследования.

Сам курс состоит из двух модулей: образовательного и практического. Подобная структура позволила удачно интегрировать курс в учебную программу СПО, позволяя наработать определенные профессиональные навыки.

Анализ состоял из нескольких этапов: выделение ДНК из образцов; проведение ПЦР с сопутствующей визуализацией на агарозном геле; оценка полученных результатов эксперимента. Целью работы стал поиск оперонов Van A и Van B отвечающих за устойчивость к ванкомицину, тейкопланину у энтерококков, а также гена MCR-1 обеспечивающего устойчивость грамотрицательных бактерий к колистину и полимиксину. Было проанализировано 211 образцов, собранных волонтерами по Новосибирской области.

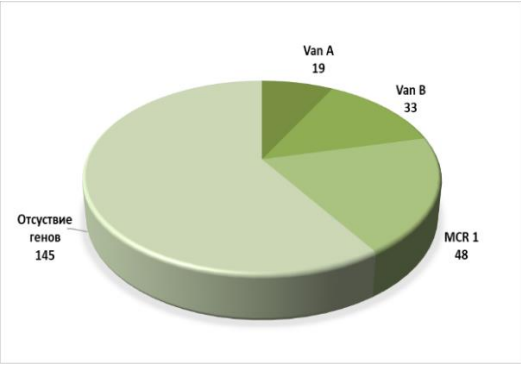


Рис.1. Соотношение полученных результатов исследования образцов фекалий на наличие исследуемых генов.

Все полученные результаты были отправлены в Томский государственный университет организаторам курса для составления базы данных. Проанализированные образцы будут направлены на дальнейшие этапы по реализации программы, в ходе которых будет производится секвенирование ДНК микробных сообществ, найденных в образцах для последующего применения не только в промышленности, но и для составления атласа микробиомов и антибиотикорезистентности, поиска новых штаммов-продуцентов антибиотиков и ферментов для различных отраслей промышленности.

Планируется дальнейшее сотрудничество с образовательными организациями и развитие проекта.

Оценка частоты встречаемости энтеробактерий с продукцией β-лактамаз у пациентов отделений терапевтического и хирургического профиля

С.Ю. Мещурова[1], А.Г. Коробова[1,2], К.И. Кириллова[2], Л.М. Самоходская[1,2]

[1]Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, г. Москва;

[2]Медицинский научно-образовательный центр Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, г. Москва.

E-mail: svetlana.meschurova@gmail.com

Цель работы – сравнить частоту встречаемости энтеробактерий с продукцией β-лактамаз у пациентов отделений терапевтического и хирургического профиля.

Материалы и методы. В исследование включены 153 изолята, полученные от пациентов из отделений хирургического профиля (абдоминальная хирургия – 50,33%, урология – 32,68%, гинекология – 7,84%, травматология и ортопедия – 6,53%, нейрохирургия – 1,31%, пластическая хирургия – 1,31%), и 89 изолятов от пациентов отделений терапевтического профиля (неврология – 24,72%, нефрология – 19,1%, кардиология – 16,85%, общая терапия – 5,96%, эндокринология – 3,37%) МНОЦ МГУ имени М.В. Ломоносова в 2021-22 г. Медиана возраста пациентов 63 и 73 года соответственно. Идентификацию микроорганизмов до вида проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии, чувствительность к антибиотикам – диско-диффузионным методом. Продукцию β-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) подтверждали методом двойных дисков, карбапенемаз – методом инактивации карбапенемов. Гены карбапенемаз определяли с помощью коммерческого набора «БакРезиста GLA» (ДНК-Технология, Россия). Госпитальными считали изоляты, полученные не ранее, чем через 48 часов после поступления пациента в стационар. Для статистической обработки использовали критерий χ^2 Пирсона, статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты. Доля энтеробактерий среди всех возбудителей инфекций составила 54,25% (n=83) и 75,28% (n=67) у пациентов отделений хирургического и терапевтического профиля соответственно ($p<0,05$). В спектре энтеробактерий преобладали *E. coli* (49,4% и 59,7%) и *K. pneumoniae* (26,51% и 26,87%). Доля продуцентов БЛРС и карбапенемаз среди энтеробактерий была аналогичной в обеих группах (36,14% и 31,34%, p=0,538; 10,84% и 10,45%, p=0,913). Карбапенемазы продуцировали только изоляты *K. pneumoniae* (n=15). У значительной части продуцентов карбапенемаз были выявлены гены металло-β-лактамаз типа NDM (изолированно – 26,32%, в сочетании с OXA-48 – 10,53%, с KPC – 5,26%), реже выявляли гены карбапенемаз типа OXA-48 (изолированно – 15,79%, с NDM – 10,53%, с KPC – 5,26%) и KPC (изолированно – 10,53%, с OXA-48 – 5,26%, с NDM – 5,26%). Следует отметить, что у хирургических больных преобладали металло-β-лактамазы (75%), а у терапевтических – сериновые (OXA-48 – 57,14%, KPC – 42,86%). Доля энтеробактерий, которые вызвали внутрибольничные инфекции, была выше в отделениях хирургического профиля (75,9% и 47,76%; $p<0,05$). Среди продуцентов карбапенемаз 73,33% изолятов (n=5 и n=6 из отделений хирургического и терапевтического профиля соответственно) были возбудителями внутрибольничных инфекций.

Выводы. В исследовании отмечено, что треть изолятов энтеробактерий продуцируют БЛРС и более 10% – карбапенемазы как среди хирургических, так и среди терапевтических пациентов. У большей части продуцентов карбапенемаз выявлены металло-β-лактамазы, что значительно сокращает возможности для выбора препарата для антибактериальной терапии. Четверть продуцентов карбапенемаз были выявлены у пациентов уже при поступлении в стационар.

Разработка систем иммуноферментного анализа для количественного определения полиеновых макролидов и полимиксинов в сыворотке крови и пищевых продуктах

А.Г. Мощева[1,2], И.А. Гальвидис[1], М.А. Буркин[1]

[1] Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, г. Москва;

[2] Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», г. Москва.

E-mail: ayyi@fmap.me

Антибиотики получили широкое распространение в самых разных отраслях — от клинической практики до животноводства и пищевой промышленности. Обеспечение контроля их содержания в разнообразных матрицах должно осуществляться методами с высокой точностью. Это может быть необходимо не только для эффективного лекарственного мониторинга, но и для соблюдения пределов допустимого содержания антибиотиков в продуктах. Возможность количественного определения антибиотиков важна для поддержания их эффективности в здравоохранении, контроля безопасности пищевых продуктов и борьбы с растущей проблемой антибиотикорезистентности.

Среди методов количественного определения антибиотиков метод жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии (ЖХ/МС) является стандартом точности и одним из самых широко используемых. Однако этот метод требует специализированного оборудования и трудоемкой пробоподготовки, что ограничивает его практическую применимость. В качестве более универсальной и простой в использовании альтернативы активно набирают популярность методы иммуноанализа.

В контексте актуальной проблемы возникновения и распространения антибиотикорезистентности наше исследование посвящено разработке систем твердофазного конкурентного иммуноферментного анализа (ИФА) для четырех антибиотиков различной структуры и областей применения, требующих контроля их применения.

Полимиксин В (ПМ) и колистин (КОЛ) — декапептидные антибиотики. Активны в отношении устойчивых грамотрицательных микроорганизмов и используются для терапии септических состояний. Кроме того, КОЛ применяется также для профилактики и лечения инфекций сельскохозяйственных животных и птиц, в следствие чего может попадать в продукты питания, такие как яйца и молочные изделия.

Амфотерицин В (АТВ) и натамицин (НАТ) — полиеновые макролиды, обладают фунгицидной или фунгистатической активностью. АТВ используется для лечения инвазивных грибковых инфекций, в том числе у реанимационных пациентов. НАТ применяют в виде наружных средств для лечения кандидоза, но более широко как пищевой консервант для обработки продуктов питания, таких как сыры, колбасы, кисломолочные продукты и напитки.

Для каждого из четырех антибиотиков были синтезированы конъюгаты иммуногенов и твердофазных антигенов. В результате иммунизации кроликов получены поликлональные антитела, подобраны наиболее оптимальные реагенты и их концентрации, позволяющие достичь максимальной чувствительности определения. Для каждой системы проводился анализ перекрестной активности, а также разрабатывались методики пробоподготовки для достижения максимальной степени извлечения аналита — сыворотки крови для ПМ и АТВ и пищевых продуктов — молока и яиц для КОЛ, хлебобулочных изделий, молочных продуктов и напитков для НАТ.

Разработанные системы твердофазного ИФА обладают высокой чувствительностью и позволяют определять концентрации полимиксинов и полиеновых антибиотиков для лекарственного мониторинга и оценки их содержания в различных продуктах питания.

Применение гигантского комбинационного рассеяния для быстрого определения антибиотикорезистентности

В.А. Мушенков[1], Е.Г. Завьялова[1], В.И. Кукушкин[2], А.Н. Нечаев[3] , Е. В. Андреев[3], Т. В. Припутневич[4], А.Б. Гордеев[4]

[1]Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, г. Москва;

[2]Институт физики твердого тела имени Ю.А. Осипьяна Российской академии наук, г. Черноголовка;

[3]Объединённый институт ядерных исследований, г. Дубна;

[4]Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова, г. Москва.

E-mail: vladimir.mushenkov@mail.ru

В настоящее время антибиотикорезистентные штаммы и связанные с ними инфекции представляют собой глобальную проблему. Число устойчивых штаммов растёт, и в будущем устойчивые инфекции, как ожидается, будут вызывать больше смертей, чем онкологические заболевания и заболевания сердечно-сосудистой системы.

Для исследования бактериальных штаммов на резистентность в настоящий момент наиболее широко используются методы микроразведений, дискодиффузионный метод, Е-тесты и т.д. Эти методы основаны на том, что антибиотик препятствует росту бактерий, устойчивые же штаммы беспрепятственно растут. Таким образом, время, которое необходимо затратить для проведения теста, определяется тем, как быстро растет культура бактериальных клеток. К примеру, для *E.coli* или *K.pneumoniae* эти методы в среднем занимают 18-36ч, тогда как для медленнорастущих *Mycobacterium tuberculosis* тест на резистентность занимает 6-8 недель.

Также существуют быстрые методы определения антибиотикорезистентности, основанные на ПЦР (к примеру тест система GeneXpert MTB/RIF), однако одна тест система чаще всего применима только к одному конкретному антибиотику.

Нами был разработан быстрый метод определения антибиотикорезистентности на основе МТТ – теста. МТТ – тест используется для определения уровня метаболизма бактерий, который резко снижается при ингибировании роста клеток антибиотиком. Образующийся в ходе внутриклеточного восстановления формазан детектируется спектроскопией комбинационного рассеяния (Раман-спектроскопией). Применение Рамановской спектроскопии позволяет определять формазан с гораздо большей чувствительностью и специфичностью по сравнению с используемой в классическом МТТ-тесте спектрофотометрией. Время анализа составляет 1-2 часа.

Также нами была предложена модификация метода, включающая сверхчувствительное определение формазана спектроскопией гигантского комбинационного рассеяния (ГКР). Для ГКР спектроскопии использовались ГКР-активные фильтрующие мембраны с Ag/Cr наночастицами. Применение эффекта ГКР позволило повысить чувствительность вплоть до детекции отдельных клеток.

Бимодальный оптический сенсор на основе кремниевых нанонитей для мониторинга антибиотикорезистентости бактерий

Д. А. Назаровская[1], П. А. Домнин[2,3], К. А. Гончар[1], С. А. Ермолаева[3], Л. А. Осминкина[1]

[1]МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет, г. Москва;

[2]МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, г. Москва;

[3]Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, г. Москва.

E-mail: nazarovskaia.da22@physics.msu.ru

Разработка быстрых и высокоточных методов для идентификации патогенных бактерий, а также исследования антибиотикорезистентности являются междисциплинарными задачами. Исследование физических эффектов, возникающих при отражении, рассеянии фотонов света на поверхностях наноструктур открывает новые возможности диагностики микроорганизмов с помощью оптических биосенсоров. В качестве материала для изготовления подложек интересно рассмотреть применение нанонитей пористого кремния (pSiNWs). Принцип работы сенсора может быть основан на сдвиге интерференционной картины вследствие изменения показателя преломления до и после инкубации с живым объектом [1,2]. Кроме того, модификация поверхности кремниевых нанонитей наночастицами серебра (Ag) и золота (Au) с получением композитных наноструктур AuAg@pSiNWs [3] может расширить область применения подложек для мониторинга бактерий методом спектроскопии комбинационного рассеяния света (КР), усиливая изначально слабый сигнал КР от бактерий благодаря эффекту локализованного плазмонного резонанса. Таким образом, подложки AuAg@pSiNWs могут включать возможности диагностики бактерий одновременно двумя оптическими методами.

Настоящая работа посвящена разработке оптического бимодального сенсора на основе композитных наноструктурированных подложек AuAg@pSiNWs для диагностики бактерий (на примере *Listeria innocua*) и их антибиотикорезистентности. Разработан метод металл-стимулированного химического травления для получения AuAg@pSiNWs и изучены их структурные свойства. Полученные подложки были использованы для диагностики *Listeria innocua* методами интерферометрии и спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния света (ГКР). При адсорбции бактерий наблюдалось изменение эффективной оптической толщины наноструктурированных пленок и возникновение характерных сигналов от белков клеточной стенки бактерий в спектрах ГКР. Вместе с тем, впервые показана возможность экспресс-диагностики антибиотико-чувствительности бактерий по изменениям интенсивностей их ГКР сигналов в течение 1-3 часов инкубации с антибиотиками.

Список литературы:

1. Lin, V. S. Y.; Motesharei, K.; Dancil, K. P. S.; Sailor, M. J.; Ghadiri, M. R. A porous silicon-based optical interferometric biosensor. Science, 1997, 278 (5339), 840-843. DOI: 10.1126/science.278.5339.840
2. Gongalsky, M. B., Koval, A. A., Schevchenko, S. N., Tamarov, K. P., Osminkina, L. A. Double Etched Porous Silicon Films for Improved Optical Sensing of Bacteria, Journal of The Electrochemical Society, 2017, 164 (12) B581-B584 DOI: 10.1149/2.1821712jes
3. Žukovskaja, O., Agafilushkina, S., Sivakov, V., Weber, K., Cialla-May, D., Osminkina, L., & Popp, J. Rapid detection of the bacterial biomarker pyocyanin in artificial sputum using a SERS-active silicon nanowire matrix covered by bimetallic noble metal nanoparticles. Talanta, 2019, 202, 171-177. DOI: 10.1016/j.talanta.2019.04.047

Благодарности: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-72-10062.

Разработка технологии выделения и характеристика бактериоцина штамма *Bacillus subtilis* 2895/6/14

А.А. Нерсисян, М.С. Золотарёва

МИРЭА – Российский технологический университет, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, г. Москва

E-mail: nersisyan.lina@yandex.ru

Bacillus subtilis – грамположительная палочковидная бактерия, производящая более двух десятков антимикробных веществ (АМВ), большинство из которых имеют пептидную природу. Бактериоцины – группа синтезируемых на рибосомах пептидов, способных убивать генетически близкие штаммам-продуцентам микроорганизмы. По сравнению с традиционными антибиотиками или пищевыми консервантами бактериоцины не токсичны для человеческого организма, поскольку наши клетки не имеют рецептора, распознаваемого бактериоцинами. Бактериоцины, образуемые *Bacillus spp*., демонстрируют более широкий антимикробный спектр, чем большинство бактериоцинов молочнокислых бактерий [2].

В исследовании использовали штамм *Bacillus subtilis* 2895/6/14. В данной работе целевым продуктом является антибиотик, поскольку эксперименты, проводимые во время первичного скрининга, оценивались по зоне подавления роста тест-микроорганизма *Staphylococcus aureus* штамма 209р. *Staphylococcus aureus* – это грамположительная бактерия, которая является возбудителем большого числа заболеваний. Большую угрозу представляют штаммы MRSA, которые имеют резистентность к большому числу антибиотиков.

Для поверхностного культивирования использовали агаровую среду ISP №4 (солевой агар с крахмалом). Для глубинного культивирования использовали эту же среду без агара. Глубинное культивирование осуществляли в колбах Эрленмейера объемом 750 мл, содержащих 50 мл среды, на качалке (225 об/мин). Глубинное культивирование *B. subtilis* проводили при 36°С. 50 мл культуральной жидкости *B. subtilis* разделяли центрифугированием (4000 об./мин), а супернатант концентрировали в 5–10 раз упариванием под вакуумом при температуре 50°С на ротационном испарителе. Далее 8,4 мл сконцентрированного супернатанта смешивали с 2 мл н-бутанола (1/4 часть от объема) в течение 15 мин, после чего помещали в холодильник на ночь для разделения фаз [1]. Отбирали верхний прозрачный слой желтоватого цвета, содержащий биологически активный материал в бутанольной фракции, и высушивали в шкафу при температуре 105°С до полного удаления растворителя. Дальнейший анализ антибиотиков проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) в системе растворителей хлороформ:метанол:вода (3:2:0,5) с последующей биоавтографией.

Исследуемый штамм проявляет антагонистическую активность. Методика выделения позволяет получить активную фракцию, которая подавляет рост *Staphylococcus aureus*.

Список литературы:

1. В.Д. Похиленко, Т.А. Калмантаев, И.А. Дунайцев, К.В. Детушев, А.А. Кисличкина, Т.Н. Мухина, И.А. Чукина: Выделение и характеристика бактериоцина штамма *Bacillus subtilis*, изолированного из пассифлоры. *Микробиология*. 2022, том 7 (№1), 9-17. DOI: 10.20953/2500-1027-2022-1-9-17

2. И. А. Маланичева, Д. Г. Козлов, Т. А. Ефименко, В. А. Зенкова, Г. С. Катруха, М. И. Резникова, А. М. Королев, Л. Н. Борщевская, О. Д. Тарасова, С. П. Синеокий, О. В. Ефременкова: Новые антибиотики, образуемые штаммами *Bacillus subtilis*. *Микробиология*. 2014, том 83 (№4), 445-450. DOI: 10.7868/S0026365614040119

Подходы к преодолению резистентности бактерий на примере химического дизайна гликопептидных антибиотиков группы ванкомицина-тейкопланина

Е.Н. Олсуфьева

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе»

E-mail: eolsufeva@list.ru

Полициклические гликопептиды ванкомицин (1958 г., Eli Lilly & Co, США) и тейкопланин (1988 г., Gruppo Lepetit S.p.A., Италия) являются природными антибиотиками резерва, которые используются для лечения инфекций, вызванных резистентными грамположительными патогенами, включая метициллин-резистентные *Staphylococcus aureus* (MRSA) и *Enterococcus faecalis*, а также резистентные к пенициллину *S. pneumoniae* и *C. difficile*. Широкое распространение штаммов гликопептид-резистентных энтерококков (GRE) и золотистого стафилококка с промежуточной резистентностью к гликопептидам (GISA) простимулировали поиск подходов и методов, направленных на преодолении резистентности. Весомый вклад в разработку новых методов химической трансформации антибиотиков-гликопептидов был осуществлен на основе отечественного антибиотика эремомицина (1987 г., НИИНА РАМН, СССР) (Рисунок 1) [1, 2]. Два производных эремомицина успешно прошли доклинические испытания и были рекомендованы для дальнейшего продвижения в клинику. Используя библиотеки новых производных эремомицина, ванкомицина и тейкопланина совместно с сотрудниками отечественных и зарубежных лабораторий были изучены механизмы их антибактериального действия и сформулированы концепции преодоления резистентности бактерий GRE и GISA; обозначены перспективы возможного применения гликопептидных антибиотиков для борьбы с вирусными инфекциями, включая SARS-CoV.

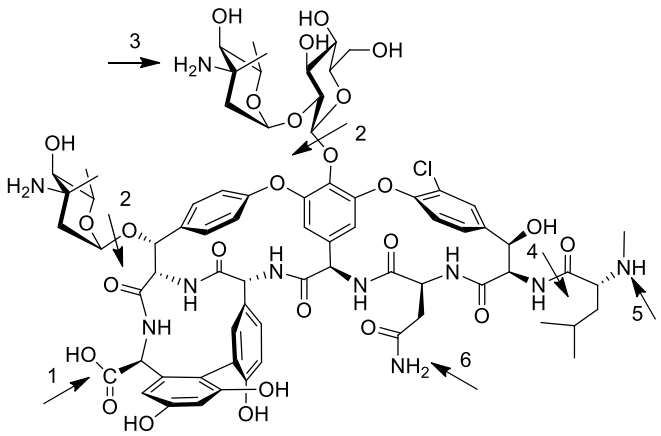


Рисунок 1. Эремомицин и пути химических трансформаций (1 - 6).

Список литературы:

1. Olsufyeva, E. N.; Tevyashova, A. N. Synthesis, Properties, and Mechanism of Action of New Generation of Polycyclic Glycopeptide Antibiotics. *Curr Top Med Chem*. **2017**,*17*(19), 2166-2198. DOI: 10.2174/1568026617666170130115957.
2. Olsufyeva, E. N.; Yankovskaya, V. S. Main trends in the design of semi-synthetic antibiotics of a new generation. *Russ. Chem. Rev*., **2020**, *89*(3), 339 – 378. DOI: 10.1070/RCR4892

Динамика микробиома Международной космической станции с 2016 по 2022 год

П.Д. Осипова[1], Д.С. Карпов[2], А.А. Дымова[1], К.А. Шеф[1], Е.А. Жукова[1], А.А. Гуридов[1], С.А. Харин[1], С.В. Поддубко[1]

[1]Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, г. Москва;

[2]Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, г. Москва.

E-mail: osipova.pamila@yandex.ru

Различные микроорганизмы являются постоянными спутниками людей как на Земле, так и в пилотируемых космических аппаратах, и даже в космической пыли, обнаруженной на внешней стороне станции (1,2). Раннее обнаружение загрязняющих веществ и микроорганизмов, которые потенциально могут вызвать биологическое обрастание станции, позволит повысить безопасность экипажа и принимать соответствующие оперативные решения для минимизации негативного воздействия на станцию. С момента эксплуатации МКС осуществляется санитарно-микробиологический мониторинг среды обитания в целях своевременного выявления и инактивации потенциально опасных штаммов. Исследование проведено с целью изучения динамики состава и количества видов бактериальных штаммов, обнаруженных на внутренних поверхностях интерьера и оборудования МКС за период, охватывающий с 46 по 67 экспедицию (2016-2022г.).

Образцы, собранные со внутренних поверхностей МКС, выращивали на питательных средах. Идентификацию штаммов проводили с помощью секвенирования 16S РНК и MALDI-TOF-анализа.

В раннем периоде эксплуатации МКС за 6 лет мониторинга станции (с 1999 по 2005 год), доминирующим родом бактерий по частоте выделения с поверхностей был род *Staphyllococcus* (84%), на втором месте по частоте выделения бактерии рода *Bacillus*, среди которых вид *Bacillus licheniformis* составляет 2.8% [3]. Согласно полученным данным за период 2016 по 2022 год в структуре бактериального компонента микробиома МКС доминируют 2 представителя рода *Staphyllococcus* (44%) и *Bacillus* (44%), среди последних доля от общего видового разнообразия видов вид *B. licheniformis* составляет 74%.

Наблюдаемая динамика изменения соотношения видового состава микробиома в сторону увеличения доли бактерий рода *Bacillus*, вероятно, связана с их высокой устойчивостью к различным факторам присущим космическому полету, включая ДНК-повреждающие факторы. В свою очередь, высокая устойчивость к стрессовым факторам *Bacillus* может быть связана с наличием плотной клеточной стенки, способности к спорообразованию, высокой популяционной изменчивостью и повышенной способностью к адаптации к меняющимся условиям окружающей среды (4, 5, 6).

Список литературы:

(1) Цыганков О.С. и др. Космическая техника и технологии. 2015. №1(8).
(2) Grebennikova T.V. et al. *Scientific World Journal*. 2018. Available online from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29849510/
(3) Novikova N. et al. *Research in Microbiology*. 2006. 157, 5-12.
(3) Карпов Д.С. и др. *Молекулярная биология*. 2020. Т.54 №1.
(4) Осипова П.Д. и др. *Молекулярная биология*. 2022. Т.26 №6.
(5) Карпов Д.С. и др. *Молекулярная биология*. 2020. Т.54 №5.

Благодарности: Работа частично выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (контракт в системе электронный бюджет № 075-10-2021-113, ID проекта: RF----193021X0001).

N^4-Аминоалкильные производные 6-метилцитидина - ингибиторы роста микроорганизмов

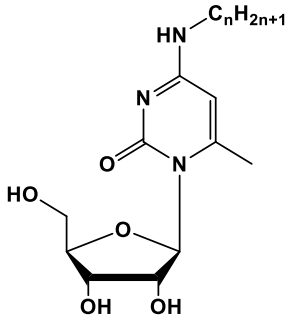
И.А. Оскольский[1], Д. А. Макаров[1], М.В. Ясько[1], И.Л. Карпенко[1], О.В. Ефременкова[2], Б.Ф. Васильева[2], А.А. Жгун[3], Л.А. Александрова[1], С.Н. Кочетков[1]

[1]Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, г. Москва;
[2]Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, г. Москва;

[3]Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, г. Москва.

E-mail: ivanos377@gmail.com

Синтезированы N^4-аминоалкильные производные 6-метилцитидина, содержащих объёмные алкильные заместители в N^4 положениии остатка цитозина. Изучены их биологические свойства.



n= 10, 12, 14

Показано, что синтезированные производные проявляют умеренную токсичность в отношении клеток человека. Они ингибируют рост ряда грамположительных бактерий, включая лекарственно-устойчивые штаммы *Staphylococcus aureus* и *Mycobacterium smegmatis* с активностью, сравнимой с некоторыми применяемыми в медицинской практике антибиотиками, а также штаммы плесневых грибов-биодеструкторов.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-14-00106.

Конъюгативная плазмида pPPUT-Tik1-1 из древнего штамма *Pseudomonas putida* и ее современные клинические аналоги

Н.Ф. Петрова[1], А.В. Белецкий[2], А.В. Марданов[2], М.А. Петрова[1]

[1] Национальный исследовательский центр «Курчатовский Институт», г. Москва;

[2] Институт биоинженерии, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, г. Москва.

E-mail: nikafpetrova@gmail.com

Нами была охарактеризована новая группа конъюгативных плазмид бактерий рода *Pseudomonas,* родственных плазмиде pPPUT-Tik1-1 (153663 п.н.), обнаруженной в штамме *P. putida* Tik1, выделенном из вечной мерзлоты [1]. Плазмида pPPUT-Tik1-1 несет дефектный ртутный транспозон Tn*501*, и транспозон Tn*5393* с генами устойчивости к стрептомицину. Показано, что родственные плазмиды широко распространены среди современных, как природных, так и клинических штаммов. Две плазмиды из клинических штаммов *P. putida* и *P. fulva* практически идентичны плазмиде из вечной мерзлоты. Большинство плазмид этой группы, как и pPPUT-Tik1-1, содержит оперон устойчивости к ртути в составе различных транспозонов. Некоторые из плазмид, родственных pPPUT-Tik1-1, несут детерминанты устойчивости к антибиотикам и/или солям тяжелых металлов, а также гены деградации ксенобиотиков.

Плазмиды, родственные pPPUT-Tik1-1, имеют узкий круг хозяев и распространяются только в пределах рода *Pseudomonas.* Более того, путем конъюгации нам не удалось перенести pPPUT-Tik1-1 ни в один из шести использованных штаммов *P. aeruginosa*. Таким образом, роль плазмид новой группы в распространении устойчивости к антибиотикам в клинике не до конца ясна. Большинство плазмид из новой группы не содержат детерминант устойчивости к антибиотикам и пока, вероятно, не играют большой роли в распространении этих генов. Однако в 2023 году в GenBank была сдана полная последовательность относящейся к группе pPPUT-Tik1-1 плазмиды pNY7610-IMP из клинического штамма *P. aeruginosa* NY7610, содержащей интегрон 1 класса и шесть генов устойчивости к антибиотикам различных классов. Примечательно, что район ориджина репликации этой плазмиды имеет ряд отличий, что может объяснять ее способность к репликации у штаммов *P. aeruginosa*.

Результаты исследования позволяют предположить, что активное применение антибиотиков приводит к рекрутированию клиническими штаммами новых плазмид из окружающей среды. Таким образом, наши данные указывают на то, что проблема борьбы с глобальным распространением устойчивости к антибиотикам требует междисциплинарного и скоординированного подхода к устранению угроз здоровью, с учетом глобального переноса генов устойчивости между бактериями, ассоциированными с человеком, животными и окружающей средой [2].

Список литературы:

1. Maslova, O.; Beletsky, A.; Mindlin, S.; Petrova, N.; Mardanov, A.; Petrova, M. Conjugative Plasmid pPPUT-Tik1-1 from a Permafrost Pseudomonas putida Strain and Its Present-Day Counterparts Inhabiting Environments and Clinics. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, 24, 13518. DOI: 10.3390/ijms241713518
2. Aslam, B.; Khurshid, M.; Arshad, M.I.; Muzammil, S.; Rasool, M.; Yasmeen, N.; Shah, T.; Chaudhry, T.H.; Rasool, M.H.; Shahid, A.; et al. Antibiotic Resistance: One Health One World Outlook. *Front. Cell Infect. Microbiol.* **2021**, 11, 771510. DOI: 10.3389/fcimb.2021.771510

Эмульсионные микроконтейнеры на основе белка молочной сыворотки для пролонгированной антибактериальной терапии

В. О. Пластун, О.И. Гуслякова, М.С. Савельева, Е.С. Прихожденко, О.А. Майорова

Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов

E-mail: voplastun@gmail.com

Бактериальные инфекции мочеполовой системы являются одной из серьезных проблем современной медицины. Актуальными задачами являются как поиск новых перспективных препаратов для антибактериальной терапии, так и разработка более совершенных лекарственных форм и систем доставки уже существующих антибиотиков.

Нами были разработаны эмульсионные микрогели (ЭМ) на основе раствора белка молочной сыворотки с различным соотношением фракций вода:масло (1:3, 1:5), содержащие антибактериальные препараты цефалоспоринового ряда (цефазолин и цефтриаксон). На основании полученных данных о степени загрузки и скорости высвобождения антибиотиков из ЭМ была изучена антимикробная активность этих препаратов на *Escherichia coli*. Для этого образцы микрогелей инкубировали в питательном бульоне, инокулированном *E. coli*. Затем из каждой пробирки отбиралось 25% жидкости и заменялось на эквивалентный объем свежей среды, содержащей *E. coli*, отобранная культуральная жидкость высеивалась на питательный агар. Эти процедуры повторялись каждые 24 ч до окончания действия препаратов. Для уточнения характера действия исследуемых препаратов на тестовый бактериальный штамм было проведено исследование бактериальных субпопуляций (живые и мертвые бактерии) методом проточной цитометрии после окрашивания бактериальных клеток DAPI и Пропидий йодидом на 7 и 13 сутки эксперимента.

Согласно результатам эксперимента, все образцы ЭМ, содержащие цефазолин, вызывали угнетение роста *E. coli* в течение 7 суток. Из них полное подавление роста бактерий наблюдалось в течение 2 суток для ЭМ 1:3 и 3 суток – для ЭМ 1:5, в остальные сутки – частичное подавление роста. Свободный цефазолин сохранял активность на протяжении первых суток. Микрогели, содержащие цефтриаксон, продемонстрировали антибактериальный эффект на протяжение 14 дней. При этом бактерицидный характер действия наблюдался в течение 10 дней для ЭМ 1:3 и 13 дней для ЭМ 1:5. Свободный цефтриаксон также оказывал антимикробное действие в течение 14 дней, однако продолжительность периода полного подавления роста у всех контрольных образцов была существенно меньше по сравнению с образцами микрогелей.

Установлено, что иммобилизация антибактериальных препаратов (цефазолина, цефтриаксона) в эмульсионные микрогели на основе белка молочной сыворотки не только не приводит к снижению их эффективности, но и позволяет существенно увеличить продолжительность и интенсивность действия этих препаратов.

Благодарности: Исследование было поддержано Российским Научным Фондом (№ проекта 21-75-10042).

Оценка эффективности новых синтетических антибактериальных средств *in vivo* в отношении бактериальных патогенов ESKAPE

Е.В. Рогачева, Л.А. Краева

Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, г. Санкт-Петербург

E-mail: elizvla@yandex.ru

Бактериальные патогены группы ESKAPE проявляют высокую устойчивость к антибиотикам, некоторые из них – способностью к биопленкообразованию. Возрастающая резистентность к антибактериальным препаратам предопределяет необходимость поиска новых средств для профилактики нозокомиальных инфекций. Несмотря на то, что научно-исследовательский конвейер постепенно пополняется новыми антибиотиками, только один из каждых четырех новых препаратов представляет собой принципиально новый класс лекарств или механизм действия. Мы провели исследование активности 3-фенил-2Н-азирин-2-карбоновой кислоты в отношении бактерий группы ESKAPE с целью дальнейшей разработки антибактериальных препаратов.

Цель исследования: определить наличие антибактериальных свойств и аактивность *in vivo* не природных 2*H*-азирин-2-карбоновых кислот в отношении бактерий группы ESKAPE.

Материалы и методы. Исследовали антибактериальную активность 16 соединений в отношении 6 эталонных штаммов бактерий группы ESKAPE из коллекции ATCC, а также 60 клинических штаммов (от амбулаторных и стационарных пациентов) с помощью фенотипических тестов (определение чувствительности диско-диффузионным методом и определение минимальной ингибирующей концентрации) и биологических проб. Для оценки эффективности антибактериального вещества в качестве биологической модели взяты самки аутбредных белых мышей с острой формой экспериментального раневого стафилококкоза весом 19-22 г, которых заражали референтным штаммом *Staphylococcus aureus* 12*10(8) КОЕ/мл. Лечение начинали на 1-е сутки с момента заражения и продолжали в течение 7 суток соединением-лидером в сравнении с ко-тримоксазолом. Статистическую обработку данных проводили по критерию Стьюдента, доверительный интервал определяли для вероятности 95 %.

Результаты. Среди 16 соединений лидером оказалось 3е, проявившее активность в отношении 5 из 6 микроорганизмов группы ESKAPE (зона задержки роста от 5 до 15 мм) за исключением *Pseudomonas aeruginosa*. Минимальные подавляющие концентрации были выше таковых для сульфаметоксазола, однако соединение ингибировало рост *S. aureus* в концентрациях даже ниже, чем антибиотик (9 мкг/мл и 16 мкг/мл соответственно). Пик развития инфекционного процесса у мышей приходился на 7-й день заражения, в то время как при лечении антибиотиком и антибактериальным веществом отмечается положительная динамика и снижение колониеобразующих единиц в бактериологических высевах из раневой поверхности с 1-го дня (65 и 73 КОЕ/мл для антибиотиков и вещества соответственно).

Выводы. Исследованные антибактериальные вещества могут быть предложены для дальнейшей химической оптимизации и рассмотрения в качестве кандидатов для лабораторных исследований на биологических моделях.

Благодарности: Исследование выполнено при поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации СП-4439.2022.4.

Мультикатионные четвертичные аммониевые соединения – основа борьбы с бактериальной резистентностью

М.А. Сеферян, Н.А. Фролов, Е.А. Саверина, А.Н. Верещагин

Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук, г. Москва

E-mail: marysev@ioc.ac.ru

Пандемия COVID-19 повлекла за собой резкое развитие бактериальной резистентности за счет беспорядочного и повсеместного использования противомикробных агентов, включая дезинфицирующие средства. По данным отчета ВОЗ 2022 года устойчивость бактерий к используемым препаратам возросла на 15% с начала пандемии. Таким образом разработка новых химических веществ, обладающих сильным, а главное стабильным действием даже при длительном контакте с возбудителями, является серьезным челленджем для научного сообщества.

Четвертичные аммониевые соединения (ЧАС) представляют собой класс катионных биоцидов, проявляющих высокую антибактериальную, фунгицидную и антибиопленочную активность. Однако, преобладающие на рынке моно-ЧАС являются менее перспективными по сравнению с новым поколением бис- и мульти-ЧАС, которые обладают более широким спектром действия и высокой эффективностью [1].

В нашей группе мы разработали новую концепцию увеличения молекулярного разнообразия мультикатионных ЧАС на основе изоциануровой кислоты как удобного и легкодоступного реагента. Эффективность полученных соединений изучали на лабораторных и полирезистентных клинических штаммах бактерий, а также на дрожжеподобном грибе *Candida albicans*.

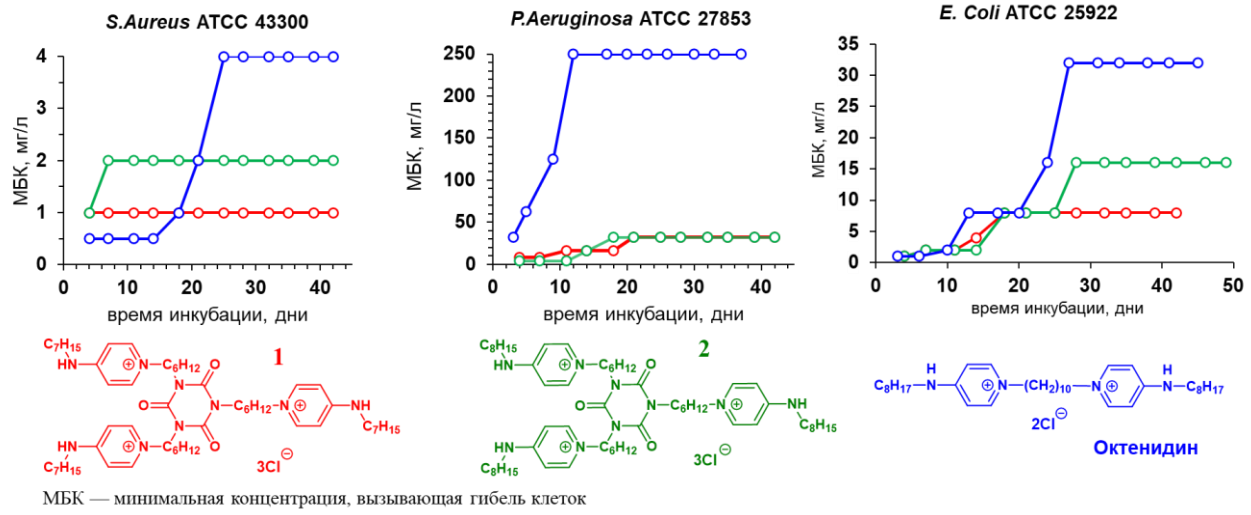


Рис. 1. Исследование развития резистентности бактерий к октенидину и соединениям-лидерам. На графиках показан рост МБК в течение 42 дней для каждого патогена.

Результаты исследований показали более высокий уровень противомикробной активности, чем широко используемые коммерческие ЧАС. Соединения-лидеры обладали выраженной активностью в отношении клинических штаммов, а также демонстрировали долговременный биоцидный эффект без значительного развития резистентности микроорганизмов (Рис. 1).

Список литературы:

1. Jennings, M. C.; Buttaro, B. A.; Minbiole, K. P. C.; Wuest, W. M., Bioorganic investigation of Multicationic Antimicrobials to Combat QAC-Resistant Staphylococcus aureus. *ACS Infectious Diseases* **2015,** *1* (7), 304-309.

Исследование кластера пептаиболов, продуцируемых штаммом *Emericellopsis alkalina* E101 и условий их образования

М.А. Суконников[1,2], А. Е. Куварина[1], М.Л. Георгиева[1,2] и В.С. Садыкова[1]

[1]Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе, г. Москва;

[2]Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва.

E-mail: sukonnikoff.maxim@yandex.ru

Важной проблемой, которая сохраняет свою актуальность на протяжении десятков лет, является проблема оппортунистических инфекций, в частности вызванных бактериальными и грибковыми штаммами. При всем многообразии веществ, активно применяемых в антимикробной терапии, все равно сохраняется необходимость поиска новых препаратов, обладающих меньшей токсичностью в отношении клеток человека, обладающих более выраженным противомикробным действием. Дополнительно, существенная проблема резистентности и скорость ее развития направляют исследователей в область поиска новых природных структур, а соответственно новых штаммов-продуцентов.

Одним из перспективных продуцентов является вид алкалотолерантных микроскопических грибов *Emericellopsis alkalina,* изоляты которых были впервые выделены из содовых солончаков Кулундинской степи и Забайкалья (Россия) в 2013 гг [1]. Важность отдельных штаммов данного вида связана со способность к продукции нового перспективного антибиотика, обладающего выраженной антифунгальной активностью в отношении патогенных и условно-патогенных штаммов грибов, эмерициллипсина А. Исследование структуры данного антибиотика позволило его отнести к структурному классу антибиотиков-пептаиболов [2].

Основной противогрибковый антибиотик Эмерициллипсин А был идентифицирован в 2018 г, впоследствии изыскание новых структур пептаиболов, продуцируемых штаммом *Emericellopsis alkalina* E101 (наиболее продуктивный), позволило выделить и установить еще несколько близкородственных структур (обозначенные гомологами нашей научной группой), в частности установлен гомолог эмерицеллипсина А, обладающий антифунгальной активностью, дегидроэмерицеллипсин А [4].

Для того, чтобы понимать характер образования различных пептаиболов, было также интересно изучить влияние отдельных факторов культивации штамма продуцента (кислотность среды, тип культивирования, длительность культивации). Результаты исследований показали, что возможность образования пептаиболов для штамма характерна только в узких границах РН, причем наблюдается явная преференция к определенной кислотности, что непосредственно сказывается на характере распределения пептаибольных форм. При варьировании периода культивирования гриба был обнаружен оптимум, при котором регистрируется максимальная продукция пептаиболов [5].

По результатам проведенных исследований, мы наблюдали ряд закономерностей, направляющих нас на путь дальнейшего изучение секретируемого метаболома кластера пептаиболов, продуцируемых видом *Emericellopsis alkalina*, что без сомнения представляет интерес в области разработки противомикробных препаратов.

Благодарности:

Тимофеевой А.В. за проведение подготовки образцов к анализу

Серебряковой М.В. за проведение серии анализов методом MALDI-TOF MS

Работа выполнена по Госзаданию молодежной лаборатории, созданной в рамах Нацпроекта «Наука и университеты» по направлению КПНИ АМР; номер проекта ЕГИСУ НИОКТР 123011800020-4.

Связывание низина с миметиком липида II в воде по данным спектроскопии ЯМР

А.Х. Тальдаев[1], И.С. Панина[2], А.О. Чугунов[1,2], К.С. Усачев[3], Э.В. Бочаров[1,2], Р.Г. Ефремов[1,2]

[1] Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет), г. Москва;

[2]Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, г. Москва;

[3] Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань.

E-mail: t-amir@bk.ru

Устойчивость к антибиотикам (АБ) — одна из 10 глобальных угроз здоровью населения Земли по данным ВОЗ. В связи с этим остро стоит проблема разработки АБ следующих поколений, в том числе и с новым механизмом действия, предпочтительно — не подверженных выработке устойчивости. Перспективная мишень для поиска и разработки антибиотиков — липид II (Л-II), локализованный в бактериальной мембране и играющий ключевую роль в синтезе пептидогликановой клеточной стенки бактерий. Среди АБ, нацеленных на Л-II, широко известен лантибиотик низин. Он образует высокоаффинный комплекс с пирофосфатным фрагментом Л-II (K_D ~10^{-9} М) в мембранном окружении за счет сети водородных связей с участием амидных протонов на N-конце пептида. Структура комплекса низин:Л-II установлена ранее методом ЯМР-спектроскопии в ДМСО[1], однако это нефизиологический растворитель, и поэтому более релевантны были бы исследования в воде и/или мембранных средах.

Была поставлена задача методом ЯМР исследовать взаимодействие низиноподобных пептидов с Л-II, а также выявить “минимальный фармакофор” такого взаимодействия. Молекула Л-II нерастворима в воде, поэтому выбран водорастворимый миметик головки Л-II — γ,γ-диметилаллилпирофосфат (DMAPP). Для решения задачи необходимо понять, как происходит узнавание и связывание низином DMAPP. В ходе ЯМР-экспериментов по титрованию низина DMAPP в водном растворе наблюдали изменение положения некоторых сигналов ^{1}H от двух аминокислотных остатков: Ile 1 (Δδ 0,14–0,21 ppm) и Dal 3 (Δδ 0,05–0,13 ppm), а также сигналов ^{31}P DMAPP (Δδ 0,45–1,85 ppm), что свидетельствует о взаимодействии. Эта картина соответствует одному из решений, появлявшихся в проведенных нами ранее расчетах молекулярной динамики, где комплекс образовался с участием аминокислотных остатков 1–3.[2] При добавлении DMAPP происходило уменьшение числа наблюдаемых сигналов NOE и их интенсивность вследствие выпадения гранулярного осадка. Ранее было показано образование осадка в случае полноразмерного Л-II в водном окружении и мицеллах.[1,3] Таким образом, по данным ЯМР-спектроскопии установлено, что в растворе может существовать ассоциат низина с миметиком PPi липида II; однако строение этого ассоциата требует дальнейших исследований.

Список литературы:

(1) Hsu, S.-T. D., Breukink, E., Tischenko, E., Lutters, M. A. G., de Kruijff, B., Kaptein, R., Bonvin, A. M. J. J., and van Nuland, N. A. J. (2004) The nisin-lipid II complex reveals a pyrophosphate cage that provides a blueprint for novel antibiotics. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 11, 963–967.

(2) Panina, I., Krylov, N., Nolde, D., Efremov, R., and Chugunov, A. (2020) Environmental and dynamic effects explain how nisin captures membrane-bound lipid II. *Sci. Rep.* 10, 8821.

(3) Hsu, S.-T., Breukink, E., de Kruijff, B., Kaptein, R., Bonvin, A. M. J. J., and van Nuland, N. A. J. (2002) Mapping the targeted membrane pore formation mechanism by solution NMR: the nisin Z and lipid II interaction in SDS micelles. *Biochemistry* 41, 7670–7676.

Вопросы применения антибиотиков в птицеводстве и антибиотикорезистентности микроорганизмов

Д.Г.Тюрина[1], А.В.Дубровин[1,2], Е.П.Горфункель[1], Е.А.Йылдырым[1], Л.И.Ильина[1], К.А.Калиткина[1], Е.С.Пономарева[1], В.А.Заикин[1]

[1]Общество с ограниченной ответственностью «БИОТРОФ», г. Санкт-Петербург;

[2]Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, г. Санкт-Петербург.

E-mail: tiurina@biotrof.ru

Актуальность: Современная интенсивная технология животноводства предполагает широкое применение антимикробных препаратов. В России принято выделять кормовые и ветеринарные антибиотики. В мясном птицеводстве ветеринарные антибиотики применяются с целями лечения, контроля за распространением заболевания, профилактики, метафилактики, а также с целью стимулирования роста [1], причем за период выращивания бройлеров выпаивается в среднем от 3 до 5 наименований антибиотиков. Применение антибиотиков может приводить к возникновению антибиотикорезистентности микроорганизмов. Целью исследования было оценить антибиотикоустойчивость микроорганизмов при выпойке цыплятам-бройлерам ветеринарных антибиотиков, а также скармливании метапробиотика.

Материалы и методы. Эксперименты проводили в виварии ООО «БИОТРОФ» на бройлерах кросса «Росс 308». Для проведения эксперимента птиц разделили на 3 группы: 1 контрольная, получавшая рацион без введения добавок, 2 опытная – получавшая дополнительно ветеринарные антибиотики, 3 опытная – получавшая дополнительно метапробиотик «Пробиоцид-Ультра» на основе органических кислот и пробиотических штаммов микроорганизмов *Bacillus* sp. Схема антибиотикотерапии: с момента посадки суточных цыплят по 3-й день выращивания – линкомицин в смеси с триметопримом и сульфаметоксазолом, с 4-го по 6-й день выращивания – тилмикозин, на 19-22 дни выращивания – колистин в смеси с энрофлоксацином, все препараты в дозировке, рекомендованной производителями.

Оценку антибиотикорезистентности микроорганизмов производили путем высева на микробиологические среды, а также с помощью ПЦР и праймеров *bla_shv, ampC, mecA, vanA, parC, parE, tetA, tetO, strA, sul1, ermA, ermB, mrcA* по [2].

Результаты. Было показано, что выпойка ветеринарных антибиотиков приводит к росту детерминант антибиотикорезистентности в помете птиц. Максимальный суммарный кратный рост антибиотикорезистентности относительно уровня 1-й контрольной группы по всем перечисленным генам был зафиксирован на 3-и сутки выращивания и достигал 686 ед. Добавление в рацион метапробиотика «Пробиоцид-Ультра» способствовало сокращению суммарной кратной антибиотикорезистентности более чем в 2 раза по сравнению со 2-й опытной группой.

Заключение. Было обнаружено, что выпойка ветеринарных антибиотиков приводит к многократному росту антибиотикоустойчивости микроорганизмов у цыплят-бройлеров. Добавление метапробиотика «Пробиоцид-Ультра» способствует сокращению количества генов антибиотикорезистентности.

Список литературы:

1. Phillips I, Casewell M, Cox T, et al. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *J Antimicrob Chemother*. 2004; 53 (1): 28-52. doi:10.1093/jac/dkg483;

2. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001; 25 (4): 402-408. doi:10.1006/meth.2001.1262.

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке гранта 22-76-00053.

Антимикробный потенциал новой комбинированной субстанции растительного происхождения для профилактики и лечения себорейного дерматита

В.А. Филатов[1], О.Ю. Куляк[1,2], Е.И. Каленикова[1]

[1]Факультет фундаментальной медицины, Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва;

[2]Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, г. Москва.

E-mail: filatovviktor09@gmail.com

Себорейный дерматит (СД) является наиболее распространенным дерматологическим заболеванием, встречающимся у более чем 50% населения в различных странах мира. Наличие резистентности у микрофлоры кожи головы, участвующей в патогенезе СД, к клинически рекомендованным лекарственным средствам из группы азолов подчеркивает важность разработки и исследования новых субстанций для лечения СД. Целью данного исследования являлась разработка новой комбинированной субстанции растительного происхождения на основе терпенов и исследование её антимикробного потенциала в отношении стандартных штаммов микроорганизмов, ответственных за развитие СД.

Активные компоненты комбинации подбирались с помощью компьютерного моделирования программой AutoDock для прогнозирования сродства к H+-АТФазе – одному из главных факторов резистентности микрофлоры кожи головы. Нами были выбраны следующие компоненты из группы терпенов: стандартизированное эфирное масло листьев *M. alternifolia* по содержанию терпинен-4-ола, 1,8-цинеол и α-(-)-бисаболол, показывающие значительное сродство к выбранной мишени в сравнении с олигомицином А, кетоконазолом и климбазолом. Изготовленная субстанция на основе эфирного масла *M. alternifolia*, 1,8-цинеола и α-(-)-бисаболола в массовом соотношении 1:1:1 была проанализирована методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией (ГХ-МС).

Определение минимальной подавляющей концентрации (МПК) проводили методом микроразведений с использованием резазурина. В качестве стандартных штаммов были выбраны следующие микроорганизмы из библиотеки АТСС: *Staphylococcus epidermidis* АТСС 14990, *Staphylococcus aureus* АТСС 29213, *Micrococcus luteus* АТСС 10240a, *Candida albicans* АТСС 10231, *Malassezia furfur* АТСС 14251. По результатам исследования, комбинированная субстанция обладала синергической и таргетной антимикробной активностью в отношении *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus aureus*, в то время как влияние на нормофлору *Micrococcus luteus* было минимально в сравнении с бензалкония хлоридом. МПК комбинированной субстанции составила 1,25 мг/мл в отношении *S. epidermidis* и *Staphylococcus aureus*. Дополнительно, новая субстанция обладала выраженной противогрибковой активностью. МПК комбинированной субстанции составила 5,00 мг/мл и 2,50 мг/мл в отношении *Malassezia furfur* и *Candida albicans* соответственно. Добавление субстанции к культуре *Malassezia furfur* и совместное культивирование в течение 1 часа позволило достичь снижения КОЕ на более чем 2 порядка, что свидетельствовало об 99% противогрибковом действии. Данный эффект был сопоставим с кетоконазолом, клинически рекомендованным для лечения СД, и выше, чем у климбазола.

Таким образом, новая комбинированная субстанция на основе эфирного масла *M. alternifolia*, стандартизированного по терпинен-4-олу, 1,8-цинеола и α-(-)-бисаболола в массовом соотношении 1:1:1 обладает значительным антимикробным действием в отношении микрофлоры СД и может быть использована для лечения данного заболевания после проведения дополнительных испытаний безопасности и кожной переносимости.

Влияние агрохимических обработок на содержание генов антибиотикорезистентности в сельскохозяйственных почвах

Л.Е. Хмелевцова, Т.Н. Ажогина, И.С. Сазыкин

Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону

E-mail: lehmelevcova@sfedu.ru

Почва является важным резервуаром генов устойчивости к антибиотикам (АРГ), но до сих пор недостаточно информации об их распространении в почвах пахотных земель и об основных движущих силах этого процесса.

Цель работы - анализ влияния агрономических мер на гены устойчивости к антибиотикам в почве. Для опыта выращивали подсолнечник и сою в 4 вариантах обработок - контроль, минеральные удобрения (аммофос (12:52), P40), пестициды, совместное внесение удобрений и пестицидов. Пробы почвы отбирали методом «конверта» дважды – по вегетации до внесения пестицидов и на момент сбора урожая. Выделяли тотальную ДНК с помощью набора FastDNA Spin Kit For Soil (MP Biomedicals, USA). Гены 16S рРНК секвенировали с использованием системы MiSeq. Чтения обрабатывали и анализировали с помощью программного обеспечения QIIME 2 (http://qiime.org/), базы данных GreenGenes 2. Количественное содержание АРГ в почвах оценивали с помощью ПЦР в реальном времени. Были изучены гены устойчивости к карбапенемам (*bla*VIM-1), цефалоспоринам (*bla*CTX-M и *mecA*), гликопептидам (v*anA* и *vanB*), тетрациклинам (*tetO*), макролидам (*ermB* и *mphA*), сульфонамидам (*sul2*), аминогликозидам (*aadA*2), а также гены трех интегронов – *int1*, *int2*, *int3*. Количество АРГ было нормировано на количество генов 16S рРНК. В почвах под обоими растениями гены *bla*VIM-1, *bla*CTX-M, *vanA* и *vanB*, *tetO*, *ermB*, *sul*2, *aadA*2 были обнаружены в 100% проб, включая контрольные делянки. Агрохимические воздействия по-разному влияли на изменение количества АРГ в зависимости от растения. Увеличилось содержание почти всех АРГ (кроме *bla*CTX-M и *mecA*) в почве под соей во всех обработках относительно контроля. Возможно участие интегронов классов 2 и 3 в распространении АРГ в почве под соей, т. к. количество *int2* возрастало при внесении пестицидов и комбинированной обработке, а *int3* – во всех вариантах. Численность планктомицетов порядка *Gemmatales* положительно коррелировала со всеми АРГ кроме *mecA* и *int1*, α-протеобактерий *Geminicoccales* – с *int2, int3, vanA* и *vanB, ermB, bla*VIM-1, *Acidimicrobiales* – с *int2, vanB, tetO, ermB.* Тесные положительные корреляции были показаны между количеством *mecA* и численностью *Limnocylindrales* и *Isosphaerales*. В почве под подсолнечником внесение минеральных удобрений (отдельно и в составе совместной обработки) приводило к увеличению количества всех АРГ кроме e*rmB* и *aadA2*, а применение пестицидов – к уменьшению содержания всех АРГ кроме *vanA*. Вероятно участие интегронов класса 1 и 2, т. к. они были обнаружены также в делянках с удобрениями и комбинированной обработкой. Показана сильная положительная корреляция численности *Actinomycetales* и *int1*, *int2, aadA2, sul*2, *vanB, tetO, mphA, mecA, bla*VIM-1, *vanA; Rhizobiales* и *Gemmatimonadales* с *int1*, *int2*. *Sphingomonadales* с *int3.* Связь средней силы установлена между *Propionibacteriales* и всеми АРГ кроме *int3* и *bla*CTX-M; *Geminicoccales* - с *int1*, *int2.*

Таким образом, сельскохозяйственные почвы (даже без внесения навоза или других органических добавок) естественным образом содержат различные АРГ. Агрохимические обработки влияют на резистом почвы как путем усиления горизонтального переноса генов, так и за счет изменения численности и разнообразия бактериальных хозяев АРГ.

Благодарности: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-76-10048, https://rscf.ru/project/21-76-10048/ в Южном федеральном университете.

Перспективные антимикробные вторичные метаболиты грибов-микромицетов из Коллекции морских микроорганизмов (КММ) ТИБОХ ДВО РАН

Е.А. Юрченко, М.В. Пивкин, А.Н. Юрченко

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, г. Владивосток

E-mail: eyurch@piboc.dvo.ru

Коллекция морских микроорганизмов начала формироваться сотрудниками Лаборатории микробиологии Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН с 1985 года и к настоящему времени содержит более тысячи штаммов морских грибов. С конца 90-х годов получило развитие исследование вторичных метаболитов морских грибов и их биологической активности, в результате сейчас детально исследованы вторичные метаболиты около ста штаммов, выделенных с различных субстратов.

В силу особенностей взаимоотношений между грибами и бактериями в микробных сообществах, где почти всегда преобладают бактерии, грибы, в том числе и морские, рассматриваются как источник индивидуальных соединений с антибактериальной активностью. Механизм действия таких веществ может затрагивать как витальные функции бактерий (синтез клеточной стенки, синтез нуклеиновых кислот, дыхание), так и систему *quorum sensing*, образование биопленок, активность внеклеточных ферментов и др.

К настоящему времени индивидуальные соединения, обладающие антимикробной активностью, были выделены из морских грибов *Stilbella aciculosa* КММ 4500 (Японское море), *Aspergillus fumigatus* КММ 4631 (Японское море), *Humicola fuscoatra* КММ 4629 (Охотское море), *Aspergillus varians* КММ 4630 (Охотское море), *Penicillium islandicum* (Охотское море), *Asteromyces cruciatus* КММ 4696 (Японское море), *Penicillium antarcticum* КММ 4685 (Японское море), *Penicillium antarcticum* КММ 4670 (Охотское море), *Aspergillus terreus* LM5.2. (Южно-Китайское море).

Помимо известных кладоспорина, гризеофульвина, фузидовой кислоты, патулина, были выделены цереброзид флавузид B, ряд антрахинонов, в том числе новых, новые циклопиановые дитерпены, сесквитерпены кариофиленового типа, новые хлорсодержащие пренилированные тетракетиды, новые трипептидные производные с уникальным для природных соединений остатком коричной кислоты. Для некоторых из них, помимо подавления роста *Staphylococcus aureus*, было показано ингибирование активности ферментов сортазы А и/или уреазы, предотвращение образования биопленок.

Также следует упомянуть совместное культивирование двух или более штаммов грибов как способ получения биологически активных соединений, в том числе с антимикробными свойствами.

Некоторые выделенные соединения, помимо антимикробных, обладают и противовоспалительными свойствами, и такое двойное действие обеспечивает их эффективность в различных инфекционных моделях даже при условии невысокой прямой антимикробной активности.

Благодарности: Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (соглашение № 075–15-2021-1052).

ANTIBIOTICS TODAY

ДЛЯ ЗАМЕТОК

ANTIBIOTICS TODAY

ДЛЯ ЗАМЕТОК

ANTIBIOTICS TODAY

ДЛЯ ЗАМЕТОК

ANTIBIOTICS TODAY

ДЛЯ ЗАМЕТОК

ANTIBIOTICS TODAY

ДЛЯ ЗАМЕТОК

ANTIBIOTICS TODAY

ДЛЯ ЗАМЕТОК

ANTIBIOTICS TODAY

ДЛЯ ЗАМЕТОК

ANTIBIOTICS TODAY

ДЛЯ ЗАМЕТОК

ANTIBIOTICS TODAY

ДЛЯ ЗАМЕТОК

ANTIBIOTICS TODAY

ДЛЯ ЗАМЕТОК

Конференция реализуется при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетический технологий на 2019-2027 годы в рамках федерального проекта «Развитие масштабных научных и научно-технологических проектов по приоритетным исследовательским направлениям» национального проекта «Наука и университеты» в рамках реализации проекта по теме «Разработка подходов для профилактики и преодоления резистентности бактерий к противомикробным препаратам» (Уникальный идентификатор контракта RF—-193021X0001) по Соглашению № 075-10-2021-113 от 12.10.2021 о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий.

Макет: П.Н. Сольев

Тираж: 100 экз.

Отпечатано в типографии «МДМ Принт», 17 ноября 2023 г.

Полная информация о школе-конференции доступна в сети Интернет по адресу:

https://antibiotics.today